

УДК 633.12:546.73

**НАКОПЛЕНИЕ РУТИНА В ГРЕЧИХЕ  
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБА ПРИМЕНЕНИЯ КОБАЛЬТА**

**Б. А. ЯГОДИН, С. М. САБЛИНА**

**(Кафедра агрономической и биологической химии)**

В полевых, мелкоделяночных полевых и вегетационных опытах изучалось влияние разных способов применения кобальта на содержание рутина в надземной массе гречихи.

Представлены данные, по которым можно судить о влиянии кобальта на активность полифенолоксидазы и пероксидазы — ферментов, участвующих в биосинтезе рутина и накоплении последнего в надземной массе гречихи.

Гречиха является ценной крупяной культурой. Зерно ее богато легкоусвояемыми белками, углеводами и жирами, содержатся в нем и соли фосфора, железа, кальция, органические кислоты, витамины. В биомассе гречихи накапливается рутин, поэтому данная культура представляет интерес как сырье для фармацевтической промышленности. Уборку растений для последующего выделения рутина рекомендуется проводить во время массового цветения, когда накопление флавоноидов (рутина) максимальное [2, 3]. В фазы полной бутонизации и цветения флавоноиды в большом количестве поглощают ультрафиолетовые лучи и выполняют защитную роль. Эти фазы у гречихи совпадают с периодом наиболее интенсивной солнечной радиации (конец июня — июль), когда растения нуждаются в такой защите [1, 17].

Дополнительное обеспечение гречихи кобальтом связано с накоплением данного элемента в растениях и усилением биосинтеза флавоноидов, при этом рост растений не угнетается.

Биосинтез флавоноидов в гречихе был подробно изучен Г. Гризебахом [11—13]. На первой ступени биосинтеза рутин из шикимовой кислоты образуется ДФАГ (3-дезоксигептулозоновая кислота), из которой, в свою очередь, образуется первое циклическое соединение — 5-дегидрохинная кислота. Для образования ее из ДФАГ необходимы ДПН<sup>+</sup> и Co<sup>2+</sup>. Следовательно, увеличение содержания кобальта в растениях будет положительно влиять на содержание 5-дегидрохинной кислоты, из которой в дальнейшем образуется фенилаланин. В биосинтезе флавоноидов фенилаланин является предшественником хлорогеновой кислоты, представляющей собой сложный эфир хинной и кофейной кислот. Образование и окисление хлорогеновой кислоты катализируют полифенолоксидаза и пероксидаза [14, 15].

Нами изучалось накопление рутина в гречихе при разных способах применения CoSO<sub>4</sub>.

## Методика

Полевые (совхоз «Кавельщинский» Калининской области), мелкоделяночные полевые и вегетационные опыты проводили в 1978—1981 гг. Объектом исследования служил тетраплоидный сорт гречихи Большевик 4, районированный в Московской области. Способы применения кобальта были следующие (для краткости приняты сокращения): 1) предпосевная обработка семян 0,02 % раствором CoSO<sub>4</sub> — ПОС (семена замачивали 6 ч при отношении массы семян к массе раствора 1 : 2); концентрация раствора CoSO<sub>4</sub> выбрана на основании результатов лабораторных опытов, в которых изучали всхожесть и энергию прорастания семян; 2) некорневая подкормка растений в фазу бутонизации — опрыскивание 0,01 % раствором CoSO<sub>4</sub> из расчета 500 л/га — НП (при одновременном опрыскивании контрольных растений водой); 3) совместное применение предпосевной обработки семян 0,02 % CoSO<sub>4</sub> и некорневой подкормки 0,01 % CoSO<sub>4</sub>; 4) внесение в почву CoSO<sub>4</sub> 2 кг на 1 га

в расчете на элемент совместно с основным удобрением — Co (n); 5) применение кобальта в смеси микроэлементов при внесении основных удобрений — МЭ.

Вегетационные опыты закладывали на кварцевом песке в сосудах емкостью 6 кг. Использовали питательную смесь Г. Я. Ринькиса [9] с корректировкой по отдельным микроэлементам.

Полная питательная смесь — ППС (мг на 1 кг песка): N — 120, P — 60, K — 150, Ca — 220, Mg — 70, Fe — 8, Cu — 0,05, Zn — 0,1, Mn — 0,6, Co — 0,02, Mo — 0,03, B — 0,5.

Схемы полевых опытов приведены в таблицах. Образцы для спектрофотометрического определения содержания кобальта подготавливали по методическим указаниям ЦИНАО [7], использовали 1-2 (пирридилазо-2-нафтол). Содержание рутина в гречихе определяли хроматоспектрофотометрически [8], активность полифенолоксидазы и пероксидазы — по Михлину и Бровицкой [6].

## Результаты

К ферментам, принимающим участие в образовании фенольных соединений, относятся полифенолоксидаза и пероксидаза, от активности которых зависит биосинтез рутина. Представляет интерес установить изменение активности данных ферментов в зависимости от способа применения кобальта.

Как видно из данных табл. 1, наиболее значительно увеличилась активность полифенолоксидазы и пероксидазы при предпосевной обра-

**Активность полифенолоксидазы и пероксидазы при разных способах применения кобальта (мл 0,01 н. I<sub>2</sub>, пошедшего на титрование 1 г свежих листьев)**

Вариант	Полифенолоксидаза	Пероксидаза	Вариант	Полифенолоксидаза	Пероксидаза
Вегетационный опыт, 1979 г.			Полевой опыт, 1979 г.		
ППС	3,2	2,9	60N50P50K	3,6	3,4
ППС + ПОС	4,7	3,7	60N50P50K + ПОС	5,1	4,2
ППС + НП	4,1	3,3	60N50P50K + НП	4,5	3,7
			60N50P50K + ПОС + НП	4,9	4,1
HCP <sub>08</sub>	0,3	0,2	HCP <sub>05</sub>	0,4	0,3

ботке семян CoSO<sub>4</sub>. При других способах внесения кобальта активность ферментов также существенно возросла. Следует отметить, что наибольшее содержание рутина в гречихе было также в варианте с предпосевной обработкой семян CoSO<sub>4</sub>. Немного уступал по содержанию рутина вариант с совместным применением предпосевной обработки семян и некорневой подкормки CoSO<sub>4</sub>. Во всех опытах с применением кобальта содержание рутина в гречихе по сравнению с его количеством в контрольных растениях существенно увеличилось (табл. 2 и 3).

Влияние кобальта на содержание рутина в листьях и в надземной массе изучалось при двух уровнях внесения основных удобрений (табл. 2). Содержание рутина в листьях было значительно выше, чем во всей надземной массе гречихи, как при одинарной, так и при двойной норме удобрений. В варианте с 120N90P90K количество рутина в листьях и во всей надземной массе гречихи было меньше, чем в варианте с 60N45P45K. Максимальное содержание рутина в растениях наблюдалось при предпосевной обработке семян CoSO<sub>4</sub>. Таким образом, содержание рутина при увеличении норм азота уменьшается. При обильном удобрении растений азотом интенсивность накопления флавоноидов, как правило, снижается [16].

Как известно, снабжение фенилаланином, являющимся исходным материалом для биосинтеза рутина, играет определяющую роль в накоплении флавоноидов. Фенилаланин может образовываться непосредственно через шикиматный путь и при расщеплении белков. При блокировании или ослаблении биосинтеза белков накопление флавоноидов усиливается [4, 5, 10], что, по-видимому, связано с увеличением доли фенилаланина, который образуется по шикиматному пути и может быть использован в данном биосинтезе.

Т а б л и ц а 2

**Содержание рутина в надземной массе гречихи в фазу цветения в зависимости от способа применения кобальта (% на абсолютно сухое вещество). Полевые опыты**

Вариант	1979 г.		Вариант	1980 г.	Вариант	1981 г.
	действие	после-действие				
60N50P50K (фон)	1,50	1,10	60N45P45K (фон 1)	1,54	45N45P45K (фон)	1,45
Фон + ПОС	2,68	1,56	120N90P90K (фон 2)	1,20	Фон + Со (почва)	2,21
« + НП	2,18	1,17				
« + ПОС + НП	2,43	1,40	Фон 1 + ПОС	2,37	« + ПОС	2,50
			Фон 2 + ПОС	1,92	« + МЭ	1,79
			Фон 1 + Со (почва)	1,90		
			Фон 2 + Со (почва)	1,52		

Содержание рутина в надземной массе гречихи в зависимости от способа применения кобальта (% на абсолютно сухое вещество).  
 Вегетационные опыты

Вариант	1979 г. (цветение)	1980 г.		1981 г. (цветение)
		цветение	созревание семян	
ППС	$\frac{1,89}{0,90}$	$\frac{2,02}{1,62}$	1,44	2,32
ППС без Со	—	$\frac{0,85}{0,67}$	1,24	1,22
ППС + Со до посева	—	$\frac{2,66}{1,52}$	1,97	2,20
ППС + ПОС	$\frac{3,26}{1,50}$	$\frac{3,70}{2,07}$	2,62	3,58
ППС + НП	$\frac{2,44}{1,14}$	$\frac{2,70}{1,83}$	2,08	3,11
ППС + ПОС + НП	—	$\frac{3,45}{1,77}$	2,35	3,43

Примечание. В числителе — действие удобрений, в знаменателе — их последствие.

Таблица 4

Накопление рутина в надземной массе гречихи (мг/сосуд). Вегетационные опыты

Опыты	ППС	ППС без Со	ППС + Со до посева	ППС + ПОС	ППС + НП	ППС + ПОС + НП
1979 г.	473	—	—	903	612	—
1980 г. (цветение)	450	181	556	995	667	883
1980 г. (созревание семян)	142	119	187	312	218	270
1981 г.	483	224	407	913	688	833

Действие разных способов внесения кобальта на содержание рутина в надземной массе гречихи в разные фазы вегетации растений изучали в вегетационных опытах (табл. 3). Наибольшим было содержание рутина в растениях, убранных в фазу цветения. В фазу созревания семян количество рутина несколько уменьшилось. Как в фазу цветения, так и в фазу созревания семян больше всего рутина содержалось в варианте с предпосевной обработкой семян кобальтом, несколько меньше — при совместном применении предпосевной обработки семян и некорневой подкормки  $\text{CoSO}_4$  и меньше всего — в варианте без внесения кобальта в питательную смесь.

Анализируя данные, представленные в табл. 3, можно отметить, что при внесении кобальта в почву и в вариантах со смесью микроэлементов содержание рутина значительно выше, чем у контрольных растений, но меньше, чем в варианте с предпосевной обработкой семян  $\text{CoSO}_4$ .

При выращивании гречихи как лекарственного сырья большое значение имеет использование таких способов внесения кобальта, которые позволяют увеличить не только надземную массу гречихи, но и содержание в ней рутина.

При внесении кобальта накопление рутина в надземной массе гречихи значительно возрастает (табл. 4 и 5).

Во всех опытах количество рутина в надземной массе гречихи и урожай надземной массы были наибольшие в вариантах с предпосев-

Накопление рутина в надземной массе гречихи (г/10 м<sup>2</sup>). Полевые опыты

Год проведения опыта	Фон	Ф + ПОС	Ф + НП	Ф + ПОС+ + НП	Ф + Со (п)	Ф + МЭ
1978	16,2	29,0				
1979	13,7	29,5	20,3	27,7		
1980 (60N45P45K)	17,7	44,8			23,4	
1980 (120N90P90 K)	13,1	27,3			17,0	
1981	15,5	42,3			29,8	24,3

ной обработкой семян  $\text{CoSO}_4$ . Самый низкий выход рутина получен без внесения кобальта в питательную смесь. Это еще раз подчеркивает важность кобальта для накопления рутина в растениях.

### Выводы

1. Применение кобальта при выращивании гречихи способствовало повышению активности полифенолоксидазы и пероксидазы. Особенно значительно возросла активность этих ферментов в варианте с предпосевной обработкой семян  $\text{CoSO}_4$ .

2. В результате внесения кобальта и прежде всего в варианте с предпосевной обработкой семян  $\text{CoSO}_4$  существенно увеличивались накопление рутина в гречихе и общий его выход.

3. При внесении 120N90P90K содержание рутина в гречихе снижалось.

4. Исключение кобальта из питательной смеси привело к резкому уменьшению содержания рутина в надземной массе гречихи.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Давидек И. Стабилизирующее действие флавоноидов на аскорбиновую кислоту. — Биохимия, 1960, т. 25, вып. 6, с. 1105—1112. — 2. Демиденко П. М. Просо и гречиха в степи Украины. — Днепропетровск: Днепр. СХИ, 1974, с. 113. — 3. Ковальский В. В., Грибовская И. Ф., Гринкевич Н. И. Роль геохимических условий среды в концентрировании микроэлементов. — Тр. ГЕОХИ им. В. И. Вернадского АН СССР, 1974, т. 13, с. 144—177. — 4. Маргна У. В., Вайнъяров Т. Р., Ланест Л. Э. Ингибирующее влияние гидроксилamina на биосинтез флавоноидов в проростках гречихи и ячменя. — Физиология растений, 1978, т. 25, вып. 6, с. 1191—1198. — 5. Маргна У. В. О месте биосинтеза флавоноидов в общей системе метаболизма растений. — Журн. общ. биологии, 1980, т. 1, с. 68—78. — 6. Методы биохимического исследования растений / Под ред. А. И. Ермакова и др. — Л.: Колос, 1972, с. 62—65. — 7. Методические указания по фотометрическому определению кобальта в кормах, растениях и вытяжках из почв с пиридилазонафтолом. — М.: ЦИНАО, 1981. — 8. На судари А. А., Кривуть Б. А. Хромато-спектрофотометрический метод определения рутина в траве секуринегии полукустарниковой. — ДАН Азерб. ССР, 1981, т. 37, № 9, с. 66—70. — 9. Ринк и с Г. Я. Оптимизация минерального питания растений. — Рига: Зинатне, 1972, с. 168—194. — 10. Гохвер А., Ыннепалу У. О роли шикиматного пути в фотостимуляции образования антоцианов в проростках гречихи. — Изв. АН СССР. Биология, 1982, т. 31, вып. 3, с. 213—217. — 11. Griesebach H. Zeitschrift fur Naturforschung, 1958, Bd. 13b, Heft. 11/12, S. 335—417. — 12. Griesebach H. — Chem. a. Biochem. of plant pigments. London, N.-Y., 1965, p. 279—308. — 13. Hahlbrock K., Griesebach H. — The flavonoids Chapman a. Hall. London, 1975. — 14. Harborne J. B., Corner J. J. Biochem. J., 1961, vol. 81, p. 242—250. — 15. Harborne J. B., Mabry T. Y., Mabry H. — In Flavonoids Preface. Chapman a. Hall. London, 1975. — 16. Margua U., Vainjan T. — Bot., 1976, vol. 16, N 4, p. 201—208. — 17. Swain T. Chemistry of Flavonoic Compound. — Pergamon Press, N.-Y., 1962.

Статья поступила 19 февраля 1986 г..

### SUMMARY

Field experiment, small-plot field experiments, and greenhouse experiments have been conducted to study the effect of different ways of cobalt application (pre-sowing seed treatment with 0.02 % solution of  $\text{CoSO}_4$ ; non-soil dressing — spraying with 0.01 % solution of  $\text{CoSO}_4$  at the rate of 500 l/ha in flower bud stage; joint application of pre-sowing seed treatment with 0.02  $\text{CoSO}_4$  and non-soil dressing with 0.01  $\text{CoSO}_4$ ) on rutin content in the above-ground buckwheat mass.

Application of cobalt increases the activity of polyphenol — oxidase and peroxidase which participate in rutin biosynthesis. The highest activity of these enzymes is obtained in variant with pre-sowing seed treatment with  $\text{CoSO}_4$ . It is shown that application of cobalt essentially increases the content and gather of rutin in buckwheat. The highest content and collection of rutin have been obtained in the variant with pre-sowing seed treatment with  $\text{CoSO}_4$ . Elimination of cobalt from nutrient mixture results in sharp decrease in rutin content in buckwheat