

УДК 581.143.32:577.152.1

ОКИСЛЕНИЕ КВЕРЦЕТИНА ПЕРОКСИДАЗОЙ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ

**К. М. Никерова, Н. А. Галибина, Ю. Л. Мощенская,
Л. Л. Новицкая, М. Н. Бородина, И. Н. Софронова**

Институт леса КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Россия

Приведены результаты изучения пероксидазного окисления кверцетина в ксилеме двух форм 40-летних деревьев березы повислой – *Betula pendula* Roth var. *pendula* (обычная береза) и *B. pendula* var. *carelica* (Mercl.) Hämet-Ahti (карельская береза), различающихся по текстуре древесины, в диапазоне pH от 4 до 10. Кверцетин использован в качестве известного модельного субстрата для изучения пероксидазных процессов. Определены максимумы поглощения кверцетина для изучаемого диапазона pH. Рассмотрены особенности протекания реакции в кислой, нейтральной и щелочной средах для изучаемых объектов. Приведены зависимости активности пероксидазы (ПОД) от времени, а также исследован характер изменения пероксидазной активности в диапазоне pH. Выявлены количественные характеристики реакции окисления кверцетина пероксидазой в ксилеме двух форм березы повислой. Показана более высокая активность кислых изоформ фермента по сравнению с основными у обеих форм березы. В кислой среде активность пероксидазы у обычной березы и карельской березы не отличалась. В щелочной среде активность пероксидазы была значительно выше в ксилеме у карельской березы. Полученные данные свидетельствуют о более высокой окислительной способности пероксидазы в ксилеме карельской березы за счет более активного участия всех изоформ в процессах окисления кверцетина. Высказано предположение, что растительные ткани с нестандартной ферментативной активностью могут быть источниками биологически активных веществ и использоваться в процессах биокатализа.

Ключевые слова: *Betula pendula* Roth var. *pendula*; *Betula pendula* var. *carelica* (Mercl.) Hämet-Ahti; пероксидаза; кверцетин; pH.

**K. M. Nikerova, N. A. Galibina, Yu. L. Moshchenskaya, L. L. Novitskaya,
M. N. Borodina, I. N. Sofronova. QUERCETIN OXIDATION BY KARELIAN
BIRCH PEROXIDASE**

The article presents the results of a study of peroxidase oxidation of quercetin in the xylem of 40-year-old birch trees of 2 forms differing in wood texture – silver birch (*Betula pendula* Roth var. *pendula*) and Karelian birch (*B. pendula* var. *carelica* (Mercl.) Hämet-Ahti), in the pH range of 4 to 10. Quercetin was used as a known model substrate for the study of peroxidase processes. The quercetin absorption maxima for the studied pH range were determined. The specific features of the reaction in acidic, neutral and alkaline media were considered for the studied objects. The time dependence of peroxidase activity is presented, as well as the pattern of peroxidase activity change in the pH range. Quercetin oxidation by peroxidase in the xylem of silver birch and Karelian birch

was quantified. Acidic isoforms of the enzyme were shown to have higher activity compared to basic ones in both birch forms. In acidic conditions, peroxidase activity did not differ between silver and Karelian birch. In basic conditions, peroxidase activity was significantly higher in Karelian birch xylem. The resultant data generally indicate a higher oxidative capacity of peroxidase in Karelian birch xylem owing to a more active participation of all isoforms in the oxidation of quercetin. It is hypothesized that plant tissues with non-standard enzymatic activity may be sources of biologically active substances and be used in biocatalysis processes.

Key words: *Betula pendula* var. *carelica* (Mercl.) Hämet-Ahti; *Betula pendula* Roth var. *pendula*; peroxidase (POD); quercetin; pH.

Введение

Ткани растений с высокой оксидазной ферментативной активностью широко используются в процессах биокатализа. Они могут быть источниками биологически активных фенольных веществ и служить сырьем для получения различных ферментных препаратов. Среди оксидаз пероксидазы (ПОД) обладают более высоким окислительно-восстановительным потенциалом, в связи с чем их часто используют в биокаталитических реакциях галогенирования, полимеризации, синтеза полифенолов, хинонов, для ускорения образования углерод-углеродных связей [Burton, 2003; Borges et al., 2017]. Растительные ПОД являются непосредственными участниками биосинтеза компонентов клеточных стенок (лигнина, целлюлозы и гемицеллюлоз), которые широко применимы в химической промышленности, биоэнергетике, агротехнологиях и т. д. [Chen, 2014]. В этой связи древесные растения, отличающиеся разнообразием компонентов вторичных клеточных стенок, могут быть использованы в качестве сырья для извлечения ферментных препаратов и биологически активных веществ.

Для изучения пероксидазных процессов и возможности их применения в биокатализе при различных условиях важное значение имеет подбор субстрата окисления, который позволяет рассмотреть активность фермента в широком диапазоне pH, включая как физиологические значения, так и экстремальные условия, применяемые в различных отраслях промышленности. Таким признанным субстратом является кверцетин, который в зависимости от pH имеет разную степень ионизации и разное количество электроактивных центров [Jovanovic et al., 1994; Brett, Ghica, 2003; Червяковский и др., 2009], в связи с чем его окисление пероксидазами различается в диапазоне pH.

Кверцетин относится к подклассу флавонолов из класса флавоноидов [Запрометов,

1993], их отличает наличие гидроксильной группы в С3 положении.

Из всех флавоноидов флаванолы, в том числе кверцетин, наиболее склонны к окислению. Они способны окисляться растительными пероксидазами с достаточно высокими скоростями [Schreiber, 1974; Chan et al., 1999; Takahama, Oniki, 2000]. Вероятно, кверцетин и ему подобные соединения – природные субстраты для ПОД. Для растений процесс окисления флавоноидов является неотъемлемым процессом нормального роста и развития [Taylor, Grote-wold, 2005; Pourcel et al., 2006].

Кверцетин является продуктом окисления природного дегидрокверцетина, наличие которого присуще древесным растениям. Оба этих фенольных соединения находят широкое применение в пищевой промышленности, нейтрализуя активные формы кислорода, в качестве антиоксидантов. В медицине дегидрокверцетин и кверцетин применяются для лечения лучевой болезни, септического эндокардита, для профилактики поражений капилляров и др. Кверцетин ингибирует гиалуронидазу, защищает от окисления аскорбиновую кислоту и адреналин [Рогожин, Перетолчин, 2009].

Наши предыдущие исследования показали, что у двух форм березы повислой, различающихся по текстуре древесины, – обычной березы повислой (*Betula pendula* Roth var. *pendula*) и карельской березы (*B. pendula* var. *carelica* (Mercl.) Hämet-Ahti) ПОД проявляет разную активность и может служить биохимическим маркером нарушений ксилогенеза [Галибина и др., 2013, 2016; Никерова, Галибина, 2017; Никерова и др., 2018]. Предполагая, что ткани с нестандартной ферментативной активностью могут использоваться в процессах биокатализа, мы провели сравнительное изучение активности ПОД в ксилеме 40-летних деревьев обычной березы повислой и карельской березы с использованием кверцетина в качестве субстрата пероксидазного окисления в широком диапазоне pH.

Объекты и методы исследования

Растительный материал

Объектами исследования были 40-летние деревья обычной березы повислой (*Betula pendula* var. *pendula*) и карельской березы (*B. pendula* var. *carelica*). Все растения произрастали в одинаковых почвенно-климатических условиях на Агробиологической станции КарНЦ РАН (61°45' с. ш. 34°20' в. д.) в 2 км от г. Петрозаводска, Республика Карелия. Отбор образцов проводили в феврале. В это время растения находились в состоянии вынужденного покоя.

На стволе березы вырезали «окошки» 4×6 см и отделяли кору от древесины. С обнаженной поверхности древесины бритвенным лезвием отбирали ткани ксилемы. У узорчатых растений ткани отбирали из участков ствола с характерными вздутиями, неровностями, крупными бугорками и бугорчатыми выпуклостями. Весь растительный материал замораживали в жидком азоте и хранили в низкотемпературной морозильной камере при –70 °С.

Биохимические исследования

Растительный материал растирали с жидким азотом и гомогенизировали в среде следующего состава: 50 мМ К, Na-фосфатный буфер (рН 7,8), 0,5 мМ ЭДТА; соотношение ткань : буфер – 1 : 10. После 20-минутной экстракции гомогенат дважды центрифугировали при 10000 г в течение 15 минут при 4 °С (центрифуга MPW-351R, Польша) [Никерова и др., 2016]. В полученном супернатанте определяли активность пероксидазы (спектрофотометр СФ-2000, «ОКБ Спектр», Россия) [Галибина и др., 2013].

Для определения активности ПОД в качестве донора водорода использовали кверцетин, в качестве субстрата – перекись водорода. Инкубационная среда для определения активности ПОД содержала: соответствующий буфер, 5,2 мМ перекись водорода и 22,1 мкМ кверцетин, который предварительно растворяли в спирте при нагревании на водяной бане. Время инкубации – 20 минут. Активность ПОД оценивали по убыли оптической плотности кверцетина на соответствующей длине волны при каждом исследуемом рН и выражали как израсходовано мкмоль кверцетина / г сырой ткани за 10 мин.

Для рН 4, 5, 6, 7 – готовили цитратно-фосфатный буфер на основе 0,1 М лимонной кислоты и 0,2 М дигидрофосфата натрия. Для рН 8, 9, 10 – буфер на основе 0,1 М хлорида ка-

лия, 0,1 М борной кислоты и 0,1 М гидроксида натрия [Лурье, 1971].

Обработка данных осуществлялась в среде Microsoft Excel. Эксперименты проводились в четырех биологических повторностях, аналитическая повторность – двукратная. Приведены средние значения и их стандартные ошибки. Для оценки значимости различий использовали t-критерий Стьюдента.

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Результаты

Максимумы поглощения кверцетина в диапазоне рН

Об активности ПОД судили по уменьшению оптической плотности в области поглощения кверцетина, поэтому для каждого значения рН (4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) определяли максимум поглощения (λ , нм) и строили калибровочные графики зависимости оптической плотности от концентрации кверцетина. С возрастанием рН происходил сдвиг максимума поглощения в более длинноволновую область. Так, при рН 4 максимум поглощения соответствовал 353,7 нм, а при рН 10 – уже 384,7 нм (рис. 1).

Изменение активности пероксидазы в ксилеме у *B. pendula* var. *pendula* и *B. pendula* var. *carelica* в диапазоне рН

У растений *B. pendula* var. *pendula* и *B. pendula* var. *carelica* в ксилеме динамика активности ПОД в изучаемом диапазоне рН имела схожие тенденции (рис. 2). Так, у обеих форм березы при переходе из кислой в щелочную среду происходило понижение активности ПОД. Особенно резкое снижение пероксидазной активности наблюдали при переходе рН от 7 до 9. При переходе рН от 9 до 10 происходило повышение активности ПОД.

В целом активность ПОД в кислой среде была выше, чем в щелочной, но не имела значимых отличий между изучаемыми формами. В нейтральной среде при рН 7 наметилась тенденция к более высокой активности ПОД в ксилеме карельской березы. В щелочной среде активность ПОД у карельской березы была значимо выше, чем у обычной березы повислой: при рН 8 – в 2,5 раза, а при рН 9 и 10 – в 1,8 раза соответственно.

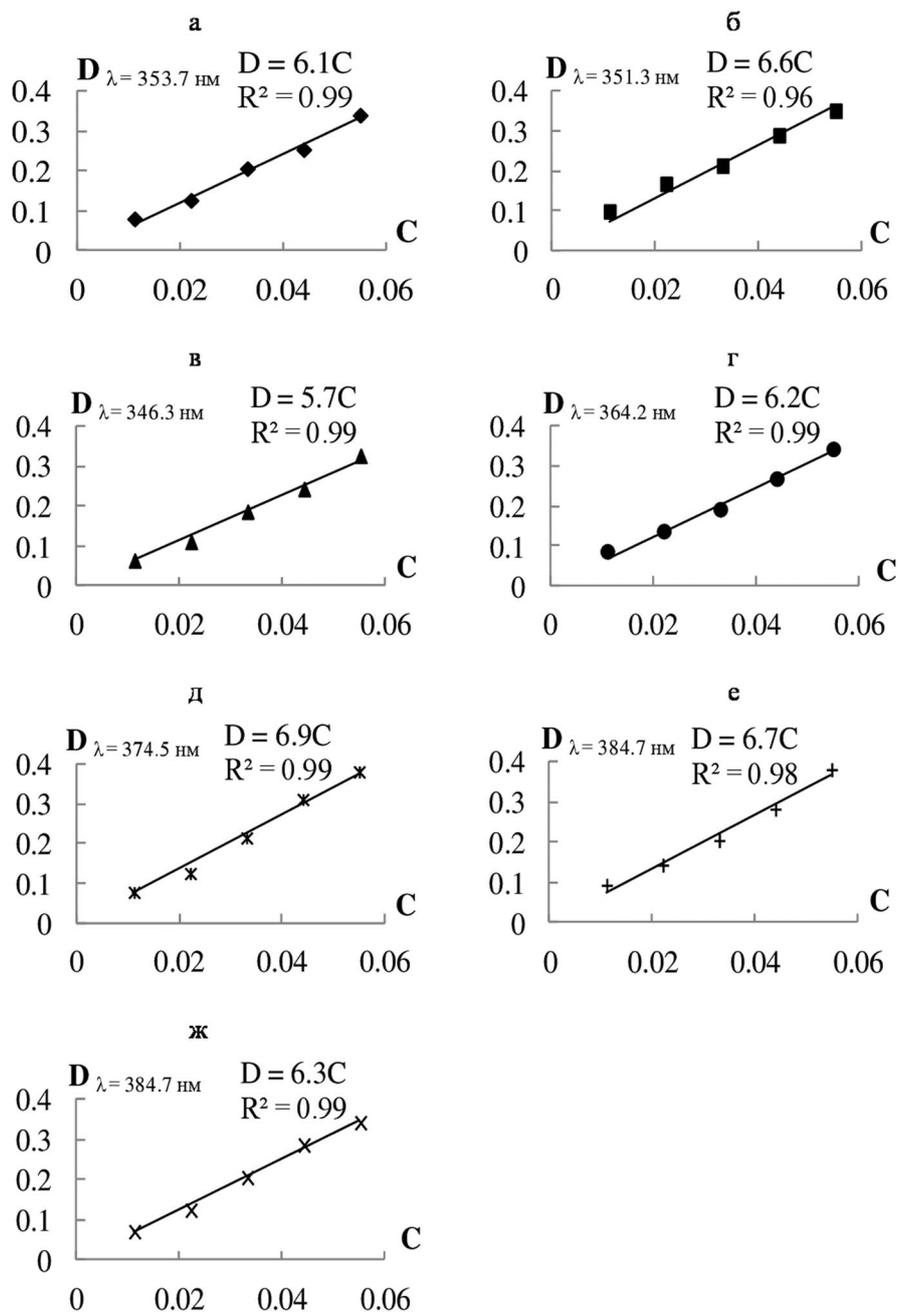


Рис. 1. Зависимость оптической плотности от концентрации кверцетина при исследуемых рН: а – 4, б – 5, в – 6, г – 7, д – 8, е – 9, ж – 10. Приведены уравнения зависимости оптической плотности (D) от концентрации кверцетина (C, ммоль/л), значение коэффициента аппроксимации (R²) и максимума поглощения (λ, нм)

Fig. 1. The dependence of optical density on the quercetin concentration in the studied pH: а – 4, б – 5, в – 6, г – 7, д – 8, е – 9, ж – 10. The equations of dependence of optical density (D) on the quercetin concentration (C, mmol/l), coefficient of approximation (R²) and absorption maximum (λ, nm) are shown

Исследование протекания реакции пероксидазного окисления кверцетина во времени у карельской березы

Поскольку активность ПОД у карельской березы в ксилеме была в целом более вы-

сокой, дальнейшее изучение реакции окисления кверцетина пероксидазой проводили на этой ткани. Учитывая уравнения зависимости оптической плотности от концентрации кверцетина (рис. 1), строили графики зависимости активности фермента от времени про-

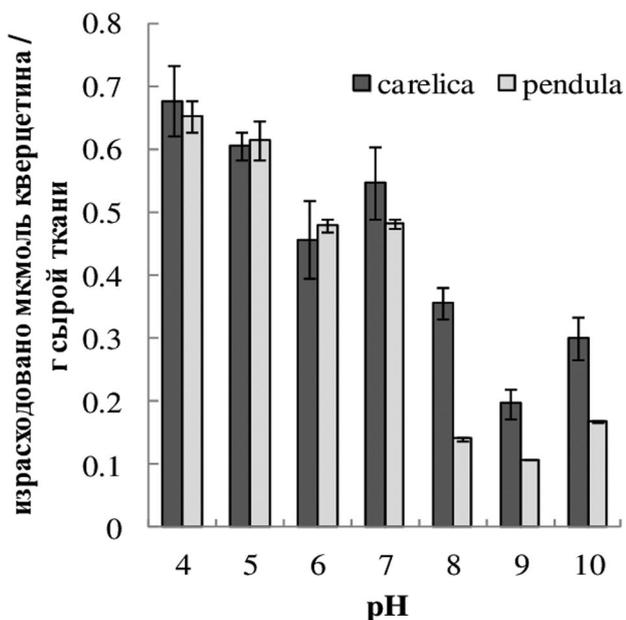


Рис. 2. Активность ПОД (израсходовано мкмоль кверцетина / г сырой ткани) у *B. pendula* var. *pendula* и *B. pendula* var. *carelica* при различных pH

Fig. 2. POD activity (consumed μmol quercetin / g FW) in *B. pendula* var. *pendula* and *B. pendula* var. *carelica* under different pH

текания реакции (3, 5, 7, 10, 15 и 20 мин) (рис. 3).

В течение 20 мин во всех исследуемых pH происходило уменьшение оптической плотности кверцетина, что свидетельствовало об убыли субстрата в связи с его расходом в реакции пероксидазного окисления, вследствие чего пероксидазная активность увеличивалась. Спустя 20 мин в кислой среде реакция практически останавливалась, что не было связано с недостатком субстрата, а определялось возможностями ферментного препарата и реакционной способностью кверцетина при каждом pH.

Окисление протекало более равномерно при pH 8 и 9, о чем можно судить по характеру уравнений линий тренда. Только в этих условиях уравнение зависимости скорости реакции от времени имело вид прямой пропорциональности (рис. 3, д, е). Тогда как в кислых и нейтральных условиях имело место быстрое увеличение активности пероксидазы в первые минуты реакции. Особенно обращает на себя внимание коэффициент аппроксимации уравнения линейной функции при pH 8, описывающий зависимость активности ПОД от времени, который равен 0,99. При pH 9 и 10 значения активности пероксидазы ниже, чем при других исследуемых pH.

Обсуждение

Ранее при использовании в качестве субстратов пероксидазного окисления бензидина и гваякола мы показали, что активность ПОД у растений карельской березы выше, по сравнению с обычной березой повислой, в тканях ксилемы [Галибина и др., 2013; Никерова, Галибина, 2017; Никерова и др., 2018] как в период покоя, так и в период активного камбиального роста. Более того, активность основных изоформ фермента [Никерова и др., 2018] была ниже, чем кислых [Галибина и др., 2013; Никерова, Галибина, 2017], что подтвердило настоящее исследование с использованием кверцетина в качестве субстрата окисления.

Однако при использовании других субстратов мы отмечали, что и в кислой среде активность ПОД у карельской березы намного превышала таковую у обычной березы и, кроме того, разница между активностью кислых и основных изоформ была более значительной. При использовании кверцетина в кислой среде не было обнаружено достоверных отличий в активности ПОД у двух форм березы. Вероятно, причина заключается в окислительных способностях кверцетина при различных условиях pH. Рассмотрим химизм процесса более подробно.

Реакционная способность флавоноидов зависит от многих факторов, которые могут изменять их константы диссоциации. Один из главных – степень ионизации гидроксильных группировок флавоноида [Slabbert et al., 1977], которая вызывает отрыв электронов. Разные флавоноиды подвержены процессу окисления в большей или меньшей степени. Способность к окислению определяют методом циклической вольтамперометрии [Jovanovic et al., 1994] по величине окислительно-восстановительного потенциала соединения (ОВП). Чем ниже ОВП, тем выше склонность к окислению. Вольтамперограммы флавоноидов представляют собой кривые с несколькими пиками [Brett, Ghica, 2003], количество которых соответствует числу электроактивных центров в структуре соединения, они формируются в основном за счет свободных гидроксильных групп, которые подвержены окислению. На окислительно-восстановительные свойства могут оказывать влияние и другие особенности строения, например, присутствие карбонильной группы и ненасыщенных связей [Червяковский и др., 2009].

Кверцетин (рис. 4) – один из самых хорошо окисляемых флавоноидов. При pH 7,7 у него регистрируются четыре пика окисления: при +0,15; +0,30; +0,60 и +0,80 В. Окислительный процесс протекает по каскадному механиз-

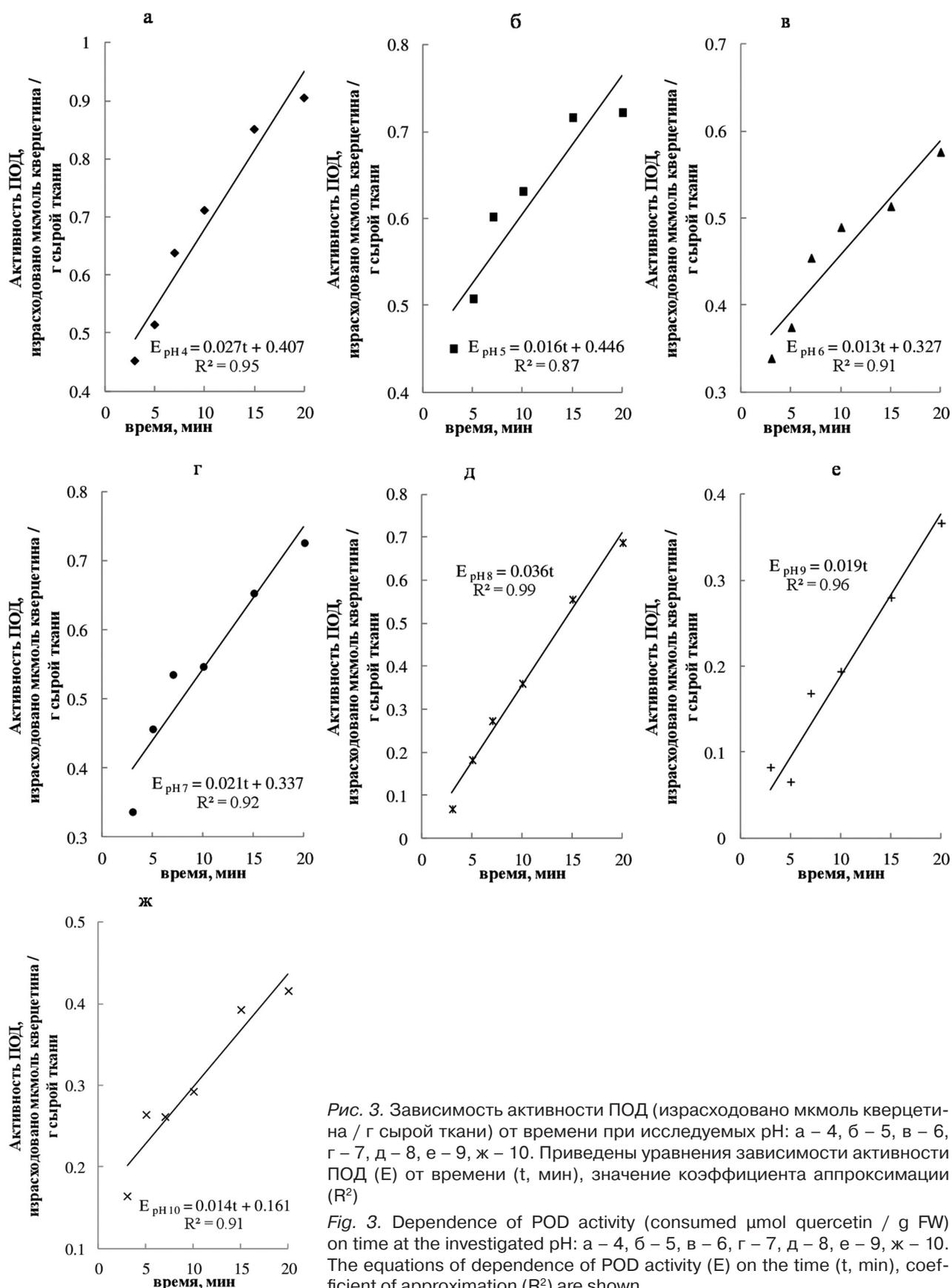


Рис. 3. Зависимость активности ПОД (израсходовано мкмоль кверцетина / г сырой ткани) от времени при исследуемых pH: а – 4, б – 5, в – 6, г – 7, д – 8, е – 9, ж – 10. Приведены уравнения зависимости активности ПОД (E) от времени (t, мин), значение коэффициента аппроксимации (R^2)

Fig. 3. Dependence of POD activity (consumed μmol quercetin / g FW) on time at the investigated pH: а – 4, б – 5, в – 6, г – 7, д – 8, е – 9, ж – 10. The equations of dependence of POD activity (E) on the time (t, min), coefficient of approximation (R^2) are shown

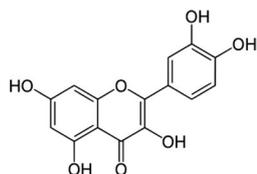


Рис. 4. Кверцетин

Fig. 4. Quercetin

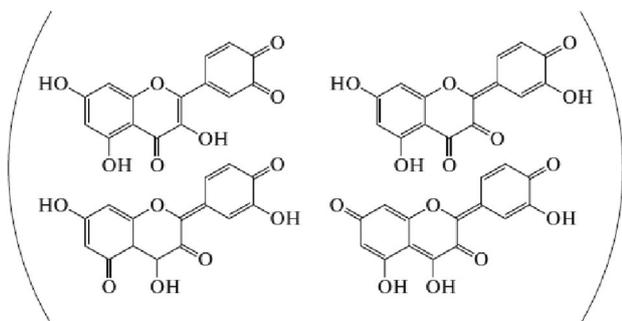


Рис. 5. Продукты окисления кверцетина пероксидазой [Boots et al., 2003]

Fig. 5. Products of peroxidase oxidation of quercetin [Boots et al., 2003]

му с вовлечением различных электроактивных структур. В щелочной среде флавоноиды, и кверцетин в том числе [Slabbert et al., 1977; Boots et al., 2003; Brett, Ghica, 2003], находятся преимущественно в ионизированной неустойчивой форме, следовательно, могут быть подвержены активному окислению и являться пероксидазными субстратами.

Сложно однозначно предположить, какие продукты образуются в результате ферментативного окисления флавоноидов, так как, вероятно, промежуточные продукты также вступают во взаимодействие с молекулой фермента и, кроме того, претерпевают ряд ферментативных превращений [Барсукова и др., 2017]. Boots с соавторами показали, что при окислении кверцетина пероксидазой в условиях pH 7,4, $C[H_2O_2] = 33$ мкМ/л образуется только один продукт – кверцетин-ортохинон, и существовать он может в представленных на рис. 5 таутомерных формах [Boots et al., 2003].

В нашем исследовании стабильное равномерное окисление было отмечено при pH 8 и 9, уравнения зависимости ПОД от времени в этих условиях имели вид прямой пропорциональности с близкими к единице коэффициентами аппроксимации (рис. 3, д, е).

Исходя из вышесказанного можно предположить, что в кислой среде, где окислительные возможности кверцетина ограничены ввиду слабой ионизации, у обычной березы повислой и карельской березы наблюдается пре-

дел активности фермента. В первые минуты реакция шла активно, затем практически останавливалась к 20-й минуте. Недостатка субстрата или фермента в наблюдаемых реакциях не было, поэтому, вероятно, сродство субстрата и фермента из-за малой ионизации в кислой среде оказывается недостаточным, не давая возможности ферменту показать свои полноценные окислительные способности. Об этом свидетельствуют и более низкие коэффициенты аппроксимации уравнений, описывающих зависимость активности фермента во времени, и заметная неравномерность протекания реакций, которая выражается тем фактом, что за равные промежутки времени активность фермента изменялась по-разному. Вероятно, это обусловлено взаимодействием активного центра фермента и слабоионизированного субстрата.

Другая вероятная причина отсутствия отличий у изучаемых форм в кислой среде – период отбора растительных тканей. Образцы ксилемы были взяты в феврале, когда растения находились в состоянии вынужденного покоя, то есть все ферментные изменения были обусловлены в первую очередь влиянием внешних факторов, в основном температуры, активных метаболических процессов в изучаемых тканях не происходило [Галибина и др., 2013]. Обычно изменения внешних условий отражаются в более высокой активности кислых пероксидаз [Gaspar et al., 1985]. Поэтому, вероятно, практически одинаковая высокая активность кислых изоформ у обеих изучаемых форм березы могла быть одинаковым ответом на условия внешней среды, а активность протекания метаболических процессов характеризовали основные изоформы фермента.

Кроме того, именно в кислых условиях наблюдается двойственная картина поведения кверцетина: и как очень активного антиоксиданта, и как субстрата для пероксидазного окисления. Действие кверцетина-антиоксиданта может ингибировать пероксидазную активность в кислой среде и даже при нейтральных pH [Rogozhin, Verkhoturov, 1998; Метелица, Карасева, 2007; Dueñas et al., 2010], что, в свою очередь, может ограничивать активность ПОД.

Для изучения антиоксидантной активности в различных органах и тканях травянистых и древесных растений часто выбирают именно кислые условия среды инкубации, однако изучение механизмов реакций антиоксидантного окисления в основных условиях среды инкубации не менее важно ввиду их распространенности в естественных биологических процессах [Dueñas et al., 2010]. Также важен правильный

подбор субстрата окисления для разных условий среды. Не все субстраты позволят изучать пероксидазную активность в широком диапазоне. Достаточно высокий рН, близкий к 8 и чуть выше, может быть обнаружен в митохондриях, пероксисомах растительных клеток [Shen et al., 2013]. Логично, что эти компартменты являются привычным местом локализации пероксидаз [Половникова, 2010].

На основании проведенного исследования можно предположить, что в период вынужденного покоя основные изоформы пероксидазы в реакции окисления кверцетина могут являться биохимическим маркером аномального ксилогенеза у карельской березы. Активное участие кислых пероксидаз в ответных реакциях организма на изменение температуры окружающей среды не позволяет в полной мере выявить их разное участие в метаболизме у обычной березы повислой и карельской березы, биохимическим маркером которого, как мы уже не раз показывали в предыдущих исследованиях, может являться повышенная активность ПОД.

Более высокая активность ПОД карельской березы в реакциях окисления кверцетина в основных условиях среды инкубации, вероятно, может быть использована в биокаталитических процессах ввиду нестандартной работы фермента как в физиологических, так и в экстремально щелочных (рН 9 и 10) условиях, и это может быть применимо в различных синтетических процессах окисления фенольных соединений. Предполагаем, что ткани ксилемы карельской березы могут являться сырьем для извлечения необычных изоформ фермента, работающих в очень широком диапазоне рН.

Заключение

В настоящей работе впервые было проведено изучение активности ПОД в ксилеме двух форм 40-летних деревьев березы повислой – обычной березы повислой (*B. pendula* var. *pendula*) и карельской березы (*B. pendula* var. *carelica*) с использованием кверцетина в качестве субстрата пероксидазного окисления в диапазоне рН.

Данная работа продолжает ряд уже опубликованных исследований, которые показывают различные биохимические стратегии ферментов АОС в процессах нормального и аномального ксилогенеза у карельской березы. Выдвинута гипотеза о возможности использования основных изоформ пероксидаз в реакции окисления кверцетина в качестве биохимического маркера аномального ксилогенеза в период вынужденного покоя. Кроме того, вероятно,

аномальные ткани карельской березы с выявленными закономерностями ферментативной активности и широким спектром изоформ ПОД могут быть использованы в различных биотехнологических процессах.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (Институт леса КарНЦ РАН) и при финансовой поддержке РФФИ (проект № 16-04-100639_p_a).

Литература

Барсукова М. Е., Токарева А. И., Буслова Т. С., Малинина Л. И., Веселова И. А., Шеховцова Т. Н. Кинетика окисления флавоноидов в водной и водно-органической средах в присутствии пероксидазы, тирозиназы и гемоглобина // Прикл. биохим. и микробиол. 2017. Т. 53, № 2. С. 146–154. doi: 10.7868/S0555109917020052

Галибина Н. А., Мошкина Е. В., Никерова К. М., Мощенская Ю. Л., Знаменский С. Р. Активность пероксидазы как индикатор степени узорчатости древесины карельской березы // Лесоведение. 2016. № 4. С. 294–304.

Галибина Н. А., Целищева Ю. Л., Андреев В. П., Софронова И. Н., Никерова К. М. Активность пероксидазы в органах и тканях деревьев березы повислой // Ученые записки ПетрГУ. Серия Естественные и технические науки. 2013. Т. 133, № 4. С. 7–13.

Запрометов М. Н. Фенольные соединения: Распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993. 272 с.

Лурье Ю. Ю. Справочник по аналитической химии. М.: Химия, 1971. 456 с.

Метелица Д. И., Карасева Е. И. Иницирование и ингибирование свободнорадикальных процессов в биохимических пероксидных системах (обзор) // Прикл. биохим. и микробиол. 2007. Т. 43, № 5. С. 537–564.

Никерова К. М., Галибина Н. А. Влияние нитратного азота на пероксидазную активность в тканях *Betula pendula* Roth var. *pendula* и *B. pendula* var. *carelica* (Mercklin) // Сибирский лесной журнал. 2017. № 1. С. 15–24.

Никерова К. М., Галибина Н. А., Мощенская Ю. Л., Новицкая Л. Л., Подгорная М. Н., Софронова И. Н. Каталазная активность в листовом аппарате у сеянцев березы повислой разных форм (*Betula pendula* Roth): var. *pendula* и var. *carelica* (Mercklin) // Труды КарНЦ РАН. 2016. № 11. С. 68–77. doi: 10.17076/eb460

Никерова К. М., Галибина Н. А., Мощенская Ю. Л., Новицкая Л. Л., Подгорная М. Н., Софронова И. Н. Ферменты антиоксидантной системы – индикаторы разных сценариев ксилогенеза: в раннем онтогенезе и во взрослом состоянии (на примере *Betula pendula* Roth) // Труды КарНЦ РАН. 2018. № 6. С. 68–80. doi: 10.17076/eb787

Половникова М. Г. Экофизиология стресса. СПб.: Изд-во Марийского ун-та, 2010. 256 с.

Рогожин В. В., Перетолчин Д. В. Кинетические закономерности окисления дигидрохверцетина пероксидазой хрена // Биоорганическая химия. 2009. Т. 35, № 5. С. 640–645.

Червяковский Е. М., Курченко В. П., Костюк В. А. Роль флавоноидов в биологических реакциях с переносом электронов // Труды БГУ. 2009. Т. 4, ч. 1. С. 9–26.

Boots A. W., Kubben N., Haenen G. R. M. M., Bast A. Oxidized quercetin reacts with thiols rather than with ascorbate: implication for quercetin supplementation // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2003. Vol. 308, no. 3. P. 560–565. doi: 10.1016/S0006-291X(03)01438-4

Borges C. V., Minatel I. O., Gomez-Gomez H. A., Lima G. P. P. Medicinal Plants: Influence of Environmental Factors on the Content of Secondary Metabolites // Medicinal Plants and Environmental Challenges / Eds. M. Ghorbanpour, A. Varma. Cham: Springer, 2017. P. 259–278. doi: 10.1007/978-3-319-68717-9_15

Brett A. M. O., Ghica M. E. Electrochemical oxidation of quercetin // Electroanal. 2003. Vol. 15, no. 22. P. 1745–1750. doi: 10.1002/elan.200302800

Burton S. G. Oxidizing enzymes as biocatalysts // Trends Biotechnol. 2003. Vol. 21, no. 12. P. 543–549. doi: 10.1016/j.tibtech.2003.10.006

Chan T., Galati G., O'Brien P. J. Oxygen activation during peroxidase catalysed metabolism of flavones or flavanones // Chem. Biol. Interact. 1999. Vol. 122, no. 1. P. 15–25. doi: 10.1016/S0009-2797(99)00103-9

Chen H. Chemical composition and structure of natural lignocelluloses // Biotechnology of Lignocellulose: theory and practices / Eds. H. Chen. Dordrecht: Springer, 2014. P. 25–71. doi: 10.1007/978-94-007-6898-7_2

Dueñas M., González-Manzano S., González-Paramás A., Santos-Buelga C. Antioxidant evaluation of O-methylated metabolites of catechin, epicatechin

and Quercetin // J. Pharm. Biomed. Anal. 2010. Vol. 51, no. 2. P. 443–449. doi: 10.1016/j.jpba.2009.04.007

Gaspar T., Penel C., Castillo F. J., Greppin H. A two step control of basic and acidic peroxidases and its significance for growth and development // Physiol. Plant. 1985. Vol. 64, no. 3. P. 418–423. doi: 10.1111/j.1399-3054.1985.tb03362.x

Jovanovic S. V. Flavonoids as antioxidants // J. Am. Chem. Soc. 1994. Vol. 116, no. 11. P. 4846–4851. doi: 10.1021/ja00090a032

Pourcel L., Routaboul J.-M., Cheynier V., Lepiniec L., Debeaujon I. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions // Trends Plant Sci. 2006. Vol. 12, no. 1. P. 29–36. doi: 10.1016/j.tplants.2006.11.006

Rogozhin V. V., Verkhoturov V. V. Effect of antioxidants (digoxin, quercetin, and ascorbic acid) on catalytic properties of horseradish peroxidase // Biochemistry (Mosc). 1998. Vol. 63, no. 6. P. 657–661.

Schreiber W. Action of horse radish peroxidase upon some flavones // FEBS Lett. 1974. Vol. 41, no. 1. P. 50–52. doi: 10.1016/0014-5793(74)80951-8

Shen J., Zeng Y., Zhuang X., Sun L., Yao X., Pimpl P., Jiang L. Organelle pH in the Arabidopsis endomembrane system // Mol. Plant. 2013. Vol. 6, no. 5. P. 1419–1437. doi: 10.1093/mp/ssst079

Slabbert N. P. Ionisation of some flavanols and dihydroflavonols // Tetrahedron. 1977. Vol. 33, no. 7. P. 821–824. doi: 10.1016/0040-4020(77)80200-7

Takahama U., Oniki T. Flavonoids and some other phenolics as substrates of peroxidase: physiological significance of the redox reactions // J. Plant Res. 2000. Vol. 113, no. 3. P. 301–309. doi: 10.1007/PL00013933

Taylor L. P., Grotewold E. Flavonoids as developmental regulators // Curr. Opin. Plant Biol. 2005. Vol. 8, no. 3. P. 317–323. doi: 10.1016/j.pbi.2005.03.005

Поступила в редакцию 19.09.2018

References

Chervyakovskii E. M., Kurchenko V. P., Kostyuk V. A. Rol' flavonoidov v biologicheskikh reaktsiyakh s perenosom elektronov [The role of flavonoids in biological reactions with electron transfer]. *Trudy BGU*. 2009. Vol. 4, no. 1. P. 9–26.

Galibina N. A., Moshkina E. V., Nikerova K. M., Moshchenskaya Yu. L., Znamenskii S. R. Aktivnost' peroksidazy kak indikator stepeni uzorchatosti drevesiny karel'skoi berezy [Peroxidase activity indicates veining of curly birch]. *Lesovedenie* [Russ. J. Forest Sci.]. 2016. No. 4. P. 294–304.

Galibina N. A., Tselishcheva Yu. L., Andreev V. P., Sofronova I. N., Nikerova K. M. Aktivnost' peroksidazy v organakh i tkanyakh derev'ev berezy povisloi [Peroxidase activity in organs and tissues of silver birch trees]. *Uchenye zapiski PetrGU. Ser. Estestvennyye i tehnicheckie nauki* [Proceed. of Petrozavodsk St. Univ. Ser. Nat. Tech. Sci.]. 2013. Vol. 133, no. 4. P. 7–13.

Lur'e Yu. Yu. Spravochnik po analiticheskoi khimii [Handbook of analytical chemistry]. Moscow: Khimiya, 1971. 456 p.

Nikerova K. M., Galibina N. A. Vliyanie nitratnogo azota na peroksidaznuyu aktivnost' v tkanyakh *Betula pendula* Roth var. *pendula* i *B. pendula* var. *carelica* (Mercklin) [The influence of nitrate on the peroxidase activity in tissues of *Betula pendula* Roth var. *pendula* and *B. pendula* var. *carelica* (Mercklin)]. *Sibirskii lesnoi zhurn.* [Siberian J. Forest Sci.]. 2017. No. 1. P. 15–24.

Nikerova K. M., Galibina N. A., Moshchenskaya Yu. L., Novitskaya L. L., Podgornaya M. N., Sofronova I. N. Katalaznaya aktivnost' v listovom apparate u seyantsev berezy povisloi raznykh form (*Betula pendula* Roth): var. *pendula* i var. *carelica* (Mercklin) [Catalase activity in leaves of silver birch seedlings of different forms (*Betula pendula* Roth): var. *pendula* and var. *carelica* (Mercklin)]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2016. No. 11. P. 78–87. doi: 10.17076/eb460

Nikerova K. M., Galibina N. A., Moshchenskaya Yu. L., Novitskaya L. L., Podgornaya M. N., Sofronova I. N. Fermenty antioksidantnoi sistemy – indikatorы raznykh stsenariyev ksilogeneza: v rannem ontogeneze i vo vzrosлом sostoyanii (na primere *Betula pendula* Roth) [The an-

tiioxidant enzymes – indicators of different xylogenesis scenarios: in early ontogeny and in adult plants (example of *Betula pendula* Roth)]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2018. No. 6. P. 68–80. doi: 10.17076/eb787

Polovnikova M. G. Ekofiziologiya stressa [Ecophysiology of stress]. St. Petersburg: Izd-vo Mariiskogo un-ta, 2010. 256 p.

Zaprometov M. N. Fenol'nye soedineniya. Rasprostranenie, metabolism i funktsii v rasteniyakh [Phenolic compounds. Occurrence, metabolism, and functions in plants]. Moscow: Nauka, 1993. 272 p.

Barsukova M. E., Tokareva A. I., Buslova T. S., Malinina L. I., Veselova I. A., Shekhovtsova T. N. Flavonoid oxidation kinetics in aqueous and aqueous organic media in the presence of peroxidase, tyrosinase, and hemoglobin. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2017. Vol. 53, no. 2. P. 149–156. doi: 10.1134/S0003683817020053

Boots A. W., Kubben N., Haenen G. R. M. M., Bast A. Oxidized quercetin reacts with thiols rather than with ascorbate: implication for quercetin supplementation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003. Vol. 308, no. 3. P. 560–565. doi: 10.1016/S0006-291X(03)01438-4

Borges C. V., Minatel I. O., Gomez-Gomez H. A., Lima G. P. P. Medicinal Plants: Influence of Environmental Factors on the Content of Secondary Metabolites. *Medicinal Plants and Environmental Challenges*. Cham: Springer, 2017. P. 259–278. doi: 10.1007/978-3-319-68717-9_15

Brett A. M. O., Ghica M. E. Electrochemical oxidation of quercetin. *Electroanal.* 2003. Vol. 15, no. 22. P. 1745–1750. doi: 10.1002/elan.200302800

Burton S. G. Oxidizing enzymes as biocatalysts. *Trends Biotechnol.* 2003. Vol. 21, no. 12. P. 543–549. doi: 10.1016/j.tibtech.2003.10.006

Chan T., Galati G., O'Brien P. J. Oxygen activation during peroxidase catalysed metabolism of flavones or flavanones. *Chem. Biol. Interact.* 1999. Vol. 122, no. 1. P. 15–25. doi: 10.1016/S0009-2797(99)00103-9

Chen H. Chemical composition and structure of natural lignocelluloses. *Biotechnology of Lignocellulose: theory and practices*. Dordrecht: Springer, 2014. P. 25–71. doi: 10.1007/978-94-007-6898-7_2

Dueñas M., González-Manzano S., González-Paramás A., Santos-Buelga C. Antioxidant evaluation of O-methylated metabolites of catechin, epicatechin

and Quercetin. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2010. Vol. 51, no. 2. P. 443–449. doi: 10.1016/j.jpba.2009.04.007

Gaspar T., Penel C., Castillo F. J., Greppin H. A two step control of basic and acidic peroxidases and its significance for growth and development. *Physiol. Plant.* 1985. Vol. 64, no. 3. P. 418–423. doi: 10.1111/j.1399-3054.1985.tb03362.x

Jovanovic S. V. Flavonoids as antioxidants. *J. Am. Chem. Soc.* 1994. Vol. 116, no. 11. P. 4846–4851. doi: 10.1021/ja00090a032

Metelitzka D. I., Karasyova E. I. Initiation and inhibition of free-radical processes in biochemical peroxide systems: A review. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2007. Vol. 43, no. 5. P. 481–505. doi: 10.1134/S000368380705002X

Pourcel L., Routaboul J.-M., Cheynier V., Lepiniec L., Debeaujon I. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends Plant Sci.* 2006. Vol. 12, no. 1. P. 29–36. doi: 10.1016/j.tplants.2006.11.006

Rogozhin V. V., Peretolchin D. V. Kinetic regulations of dihydroquercetin oxidation with horseradish peroxidase. *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2009. Vol. 35, no. 5. P. 576–580. doi: 10.1134/S1068162009050069

Rogozhin V. V., Verkhoturov V. V. Effect of antioxidants (digoxin, quercetin, and ascorbic acid) on catalytic properties of horseradish peroxidase. *Biochemistry (Mosc.)*. 1998. Vol. 63, no. 6. P. 657–661.

Schreiber W. Action of horse radish peroxidase upon some flavones. *FEBS Lett.* 1974. Vol. 41, no. 1. P. 50–52. doi: 10.1016/0014-5793(74)80951-8

Shen J., Zeng Y., Zhuang X., Sun L., Yao X., Pimpl P., Jiang L. Organelle pH in the Arabidopsis endomembrane system. *Mol. Plant.* 2013. Vol. 6, no. 5. P. 1419–1437. doi: 10.1093/mp/sst079

Slabbert N. P. Ionisation of some flavanols and dihydroflavonols. *Tetrahedron.* 1977. Vol. 33, no. 7. P. 821–824. doi: 10.1016/0040-4020(77)80200-7

Takahama U., Oniki T. Flavonoids and some other phenolics as substrates of peroxidase: physiological significance of the redox reactions. *J. Plant Res.* 2000. Vol. 113, no. 3. P. 301–309. doi: 10.1007/PL00013933

Taylor L. P., Grotewold E. Flavonoids as developmental regulators. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2005. Vol. 8, no. 3. P. 317–323. doi: 10.1016/j.pbi.2005.03.005

Received September 19, 2018

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Никерова Ксения Михайловна

руководитель аналитической лаборатории
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: knikerova@yandex.ru
тел.: (8142) 768160

CONTRIBUTORS:

Nikerova, Kseniya

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: knikerova@yandex.ru
tel.: (8142) 768160

Галибина Наталия Алексеевна

и. о. заместителя директора по научной работе, к. б. н.
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: galibina@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 768160

Мощенская Юлия Леонидовна

младший научный сотрудник лаб. физиологии и цитологии
древесных растений, к. б. н.
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: tselishcheva.yulia@mail.ru
тел.: (8142) 568216

Новицкая Людмила Львовична

заведующая лаб. физиологии и цитологии древесных
растений, д. б. н.
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: novits@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 568216

Бородина Марина Николаевна

ведущий биолог лаб. физиологии и цитологии древесных
растений
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: marishka89.11@list.ru
тел.: (8142) 568216

Софронова Ирина Николаевна

ведущий биолог лаб. физиологии и цитологии древесных
растений
Институт леса КарНЦ РАН,
Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр РАН»
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: sofronova_ira@mail.ru
тел.: (8142) 568216

Galibina, Natalia

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: galibina@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 768160

Moshchenskaya, Yuliya

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: tselishcheva.yulia@mail.ru
tel.: (8142) 568216

Novitskaya, Ludmila

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: novits@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 568216

Borodina, Marina

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: marishka89.11@list.ru
tel.: (8142) 568216

Sofronova, Irina

Forest Research Institute, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: sofronova_ira@mail.ru
tel.: (8142) 568216