

УДК 547.913

О. А. Ульянова¹, канд. биол. наук, доцент, ст. н. с.,
В. Е. Тарабанько², д-р хим. наук, профессор, зав. лаб.

¹ Красноярский государственный аграрный университет,
пр. Мира, 90, Красноярск, 660049, Россия

² Институт химии и химической технологии СО РАН,
ул. К. Маркса, 42, Красноярск, 660049, Россия

РОСТОСТИМУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПОСТОВ НА ОСНОВЕ ЕЛОВОЙ КОРЫ И СОДЕРЖАНИЕ В НИХ ДИТЕРПЕНОВ

Методом хромато-масс-спектрометрии изучен химический состав еловой коры. Исследована ростостимулирующая активность водных экстрактов коры. Установлены корреляционные зависимости ($r = 0,90-0,99$) между ростостимулирующей активностью водных экстрактов коры для роста бобовых и содержанием дитерпенов в коре.

Ключевые слова: еловая кора, гексановый экстракт, дитерпены, водный экстракт, ростостимулирующая активность.

Россия обладает четвертью мировых запасов древесины, половина из которых находится в Сибири. В процессе деревообработки образуется огромное количество отходов, которые сжигаются или вывозятся на свалки, загрязняя окружающую среду. Использование невостребованных отходов могло бы улучшить экологическую обстановку в лесных регионах России [1]. В комплексной переработке лесных ресурсов утилизация коры является наиболее слабым звеном [2]: запасы коры составляют 20—30 млн т в год, но в целевые продукты перерабатывается всего 10 % от массы образующейся коры, а многие миллионы тонн хранятся в многолетних отвалах или сжигаются [3, 4]. В то же время кора является богатым источником терпеновых соединений: монотерпенов, сесквитерпенов, дитерпенов, тритерпенов и т. д., играющих важную роль в жизнедеятельности растений, животных и человека. Известна значимая роль терпеновых соединений в почвообразовательных процессах. Вклад терпеноидов в образование гумусовых веществ почв может составлять 2—3 % [5]. Перспективно использовать кору для производства удобрительных композиций (компостов), почвогрунтов, мульчи. Об эффективности действия компостов, приготовленных на основе коры различных пород деревьев, свидетельствуют многочисленные работы [6—9]. Однако в литературе отсутствуют данные о природе (механизме) действия компостов из коры на рост растений. Поэтому целью данной работы являлось исследовать связь между химическим составом компостов из еловой коры и их рострегулирующей активностью.

Материал и методы исследования

В качестве исходного сырья для исследования использовали кору ели (*Picea*), содержащую в своем составе в порядке убывания следующие макро- и микроэлементы (в скобках указано количество элемента в %): С (51,34) > > N (0,33) К (0,22) > Са (0,20) > Mg (0,20) > P (0,04) > Fe (0,03) > > Zn (0,029) > Mn (0,021) > В (0,01) > V (0,006) > Sr (0,0014) > Pb (0,0013) >

> As (0,001) > Co (0,001) > Cd (0,0005). Содержание токсичных элементов в коре ниже ПДК, что обуславливает возможность ее использования. Кора ели характеризуется высоким содержанием углерода и низким — азота (отношение C:N составляет 156). Для того чтобы уменьшить это отношение, кору ели компостировали в течение 12 месяцев в аэробных условиях при 60 % влажности, при температуре 18—21 °С с NP-удобрениями: $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ в количестве 1,5 % и $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ в дозе 0,25 % на а. с. м. коры. В компост на основе еловой коры, кроме указанных добавок, вносили вермикулит Татарского месторождения, расположенного в Красноярском крае.

Для изучения рострегулирующей активности компостов из коры готовили водный экстракт (ВЭ): измельченную до размера частиц 0,5—1,0 мм пробу коры или компоста заливали горячей водой в соотношении 1:20 и настаивали в течение часа, периодически перемешивая полученную смесь. Указанное соотношение (кора: вода) оптимизировалось в предварительных опытах и использовалось нами ранее [10]. После охлаждения фильтровали ее через бумажный фильтр (белая лента). В качестве тест-объекта были взяты черенки фасоли по методике [11], которые получали из 10-суточных проростков фасоли, выращенных на почве в лабораторных условиях, при температуре 20—24 °С при достаточном освещении. Затем черенки срезали и помещали в стаканы с подготовленными водными экстрактами для укоренения. В каждый стакан помещали по 3 черенка фасоли. Повторность опыта трехкратная. В качестве контроля служил вариант с кипяченой водопроводной водой. Укоренение черенков фасоли происходило при комнатной температуре в течение 2 недель. Затем на каждом черенке определяли количество и длину образовавшихся корней, общую массу сформировавшейся корневой системы фасоли.

Для изучения химического состава исходной и компостированной коры измельченные до размера частиц 0,5—1,0 мм пробы экстрагировали гексаном в соотношении 1:20. Компонентный состав гексановых экстрактов исходной и компостированной коры ели исследовали методом хромато-масс-спектрометрии на газовом хроматографе Agilent Technologies 7890 A (фирмы США) с квадрупольным масс-спектрометром Agilent Technologies 5975 C в качестве детектора. Анализ проводили на 30 м кварцевой колонке HP-5 (сополимер 5 %-дифенил-95 % диметилсилоксана) внутренним диаметром 0,25 мм. Газ-носитель — гелий, 1 мл/мин. В хроматограф вводили 1 мкл рабочего раствора. Температура испарителя 280 °С. Температура колонки: 40 °С (3 мин), 40—270 °С (6 °С/мин), с последующей выдержкой при 270 °С (25 мин). Температура интерфейса между газовым хроматографом и масс-селективным детектором — 280 °С. Температура источника ионов — 173 °С. Энергия ионизирующих электронов — 70 эВ. Содержание компонентов вычисляли по площадям газохроматографических пиков без использования корректирующих коэффициентов. Качественный анализ основан на сравнении полных масс-спектров с данными библиотеки масс-спектрометрических данных Wiley 275 (275 000 масс-спектров), а также по атласам масс-спектров.

Обработка и анализ полученных результатов проведен статистическими методами с использованием программных пакетов «Excel».

Результаты исследования и их анализ

Полученные результаты показывают, что в гексановых экстрактах во всех вариантах опыта преобладают дитерпеновые соединения, составляющие от 47 до 92 % от общего химического состава экстракта (рис. 1).

Фитостерины в составах гексановых экстрактов в зависимости от варианта опыта занимают 29—31 %, а жирные кислоты — 9—22 %. Содержание моно-

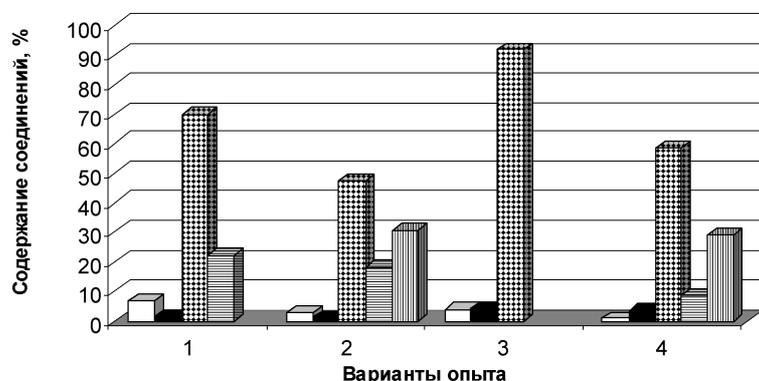


Рис. 1. Химический состав гексановых экстрактов коры ели и компостов на ее основе:
 1 — исходная кора; 2 — компостируемая кора без добавок; 3 — компостируемая кора с NP-удобрениями; 4 — компостируемая кора с NP-удобрениями и вермикулитом

терпеновых и сесквитерпеновых соединений мало и составляет 3—7 % и 1—4 %, соответственно. Следует отметить, что в еловой коре, компостируемой с минеральными удобрениями, дитерпены составляют до 92 % от общего количества соединений.

Методом хромато-масс-спектрометрии в гексановых экстрактах идентифицированы монотерпены (борнил ацетат, α -пинен), сесквитерпены (кариофилленоксид), жирные кислоты (олеиновая, эйкозановая, докозановая), фитостерины (стигмаст-4-ен-3-он, γ -ситостерин) (табл. 1).

Таблица 1

Химический состав гексановых экстрактов исходной и компостируемой коры ели, %

Название соединения	Еловая кора			
	исходная	компостируемая без добавок	компостируемая с NP-удобрениями	компостируемая с NP-удобрениями и вермикулитом
α -Пинен	0,12	0,05	0,13	—
Борнил ацетат	1,01	0,06	—	0,23
Кариофиллен оксид	0,70	0,45	0,55	1,4
Манойлоксид	1,56	0,68	1,46	2,24
Манол	7,70	3,01	2,64	12,02
12-нор-амбреинолид	2,80	2,46	—	1,22
8,12-эпокси-13 гидроксид лабд-14-ен	3,82	1,50	1,24	4,12
Каурен-16-ен-18-оиковая кислота	7,40	2,86	1,02	3,46
Дегидроабетиновая кислота	15,58	7,96	3,12	2,48
Абиета-8,11,13,-триен-7-он	0,82	0,51	2,47	—
Эйкозановая кислота	3,11	2,90	—	—
Олеиновая кислота	6,76	2,34	—	3,55
Докозановая кислота	2,34	—	—	—
Стигмаст-4-ен-3-он	не опр.	6,16	—	3,21
γ -ситостерин	не опр.	6,12	—	8,89

Примечание: прочерк означает, что соединение не обнаружено.

Среди идентифицированных химических соединений преобладающими являются дитерпены. В гексановых экстрактах выявлены бициклические, трициклические, тетрациклические дитерпеноиды лабданового, абиетанового и кауранового рядов. Из бициклических дитерпеновых соединений лабданового типа обнаружены: манол, манолоксид — гетероциклическое производное манoola, 12-нор-амбреинолид — деградированный лабданоид, 8,12-эпокси-13-гидрооксилабд-14-ен. Из трициклических дитерпеноидов абиетанового типа — *abieta-8,11,13-trien-7-one* и дегидроабиетиновая кислота. Из тетрациклических дитерпенов кауранового ряда — *каурен-16-ен-18-оиковая кислота*. Следует отметить, что среди обнаруженных дитерпеновых соединений в гексановых экстрактах исходной и компостированной без добавок и компостированной с минеральными удобрениями коре ели доминирует дегидроабиетиновая кислота. Исключение составил вариант с добавкой вермикулита, где преобладающим соединением является дитерпеновый спирт — манол. Вероятности идентификации обнаруженных в гексановом экстракте соединений со спектрами библиотеки масс-спектрометрических данных Wiley 275 достигают 83—99 % в зависимости от варианта опыта.

Анализ полученных результатов по ризогенезу черенков фасоли показывает, что максимальное количество корней образовалось в водном экстракте из исходной еловой коры (табл. 2), что свидетельствует о наличии в ней физиологически активных веществ, способствующих делению клеток и увеличению количества корней. В процессе компостирования, в зависимости от варианта опыта, количество этих веществ уменьшается.

Таблица 2

Ризогенез черенков фасоли в водном экстракте из коры ели и компостов на ее основе

Вариант	Количество корней, шт.	Средняя длина, мм	Общая сырая масса корней, г
Вода — контроль	7±0,5	6±0,6	0,55±0,05
Исходная кора	50±0,6	9±0,6	1,58±0,12
Компостированная кора без добавок	40±1,2	20±1,0	1,26±0,05
Компостированная кора с NP-удобрениями	20±1,0	25±0,6	0,84±0,04
Компостированная кора с NP-удобрениями и вермикулитом	30±1,2	25±1,0	1,17±0,09

Корреляционно-регрессионный анализ показывает, что образование корней у фасоли определяется количеством дитерпеновых соединений в компостах (табл. 3).

Коэффициенты корреляции между содержанием дитерпенов в компостах и количеством образовавшихся корней у черенков фасоли, а также общей массы корней максимальны и составляют 0,92 и 0,97 соответственно.

Какое же из идентифицированных дитерпеновых соединений в большей степени влияет на образование корней и, как следствие, формирует большую их массу? Высокие коэффициенты корреляции ($r = 0,90—0,99$) между содержанием дитерпеновых соединений в компосте и количеством образовавшихся корней у черенков фасоли и их массой выявлены со многими соединениями: абие-

Таблица 3

Корреляционная зависимость между содержанием терпеновых соединений в экстракте и ризогенезом у черенков фасоли

Терпеновые соединения	Количество корней, шт.		Общая масса корней, г	
	$r \pm S_r$	r^2	$r \pm S_r$	r^2
Монотерпены	0,77±0,24	0,59	0,87±0,19	0,75
Сесквитерпены	0,79±0,23	0,63	0,79±0,23	0,63
Дитерпены	0,92±0,15	0,84	0,97±0,08	0,95
Общая сумма терпеновых соединений	0,74±0,25	0,55	0,75±0,25	0,57

Примечание. Здесь и далее: r — коэффициент корреляции, S_r — ошибка коэффициента корреляции, r^2 — коэффициент детерминации.

та-8,11,13,-триен-7-он, каурен-16-ен-18-оиковая кислота, маноол, дегидроабие-тиновая кислота (табл. 4).

Таблица 4

Корреляционная зависимость между содержанием дитерпеновых соединений в экстракте и ризогенезом у черенков фасоли

Дитерпеновые соединения	Общее количество корней, шт.		Общая масса корней, г	
	$r \pm S_r$	r^2	$r \pm S_r$	r^2
Абиета-8,11,13,-триен-7-он	0,97±0,08	0,95	0,99±0,04	0,99
Каурен-16-ен-18-оиковая кислота	0,91±0,16	0,83	0,98±0,07	0,97
Маноол	0,91±0,16	0,83	0,94±0,13	0,88
Дегидроабие-тиновая кислота	0,90±0,16	0,81	0,92±0,15	0,84
8,12-эпокси-13 гидроксид лабд-14-ен	0,84±0,20	0,71	0,89±0,17	0,79
Манолоксид	0,62±0,30	0,39	0,70±0,27	0,49

Наиболее тесная корреляционная зависимость выявлена между количеством образовавшихся корней у черенков фасоли и дитерпеноидом — абиета-8,11,13,-триен-7-он. Полученная экспериментальная зависимость носит нелинейный характер и хорошо аппроксимируется полиномом второй степени ($R^2 = 0,9481$) (рис. 2).

Высокая ростостимулирующая активность дегидроабие-тиновой кислоты отмечена нами ранее [12]. Результаты работ других исследователей [13, 14] доказывают, что кауреновая кислота является предшественником гиббереллинов.

Следует отметить, что в исходной коре ели присутствуют физиологически активные соединения как стимулирующие образование корней, так и ингибирующие их рост. Средняя длина образовавшихся корней у черенков фасоли минимальна именно в варианте с исходной еловой корой. Компостирование коры способствует увеличению средней длины корневой системы фасоли (см. табл. 3).

Таким образом, методом хромато-масс-спектрометрии изучен химический состав и содержание соединений в исходной и компостированной коре ели. Показано, что преобладающими химическими соединениями в них являются дитерпены. Выявлена высокая ростостимулирующая активность водных экстрактов из компостированной еловой коры. Установлено, что ризогенез у черенков фасоли в значительной степени определяется содержанием дитерпенов

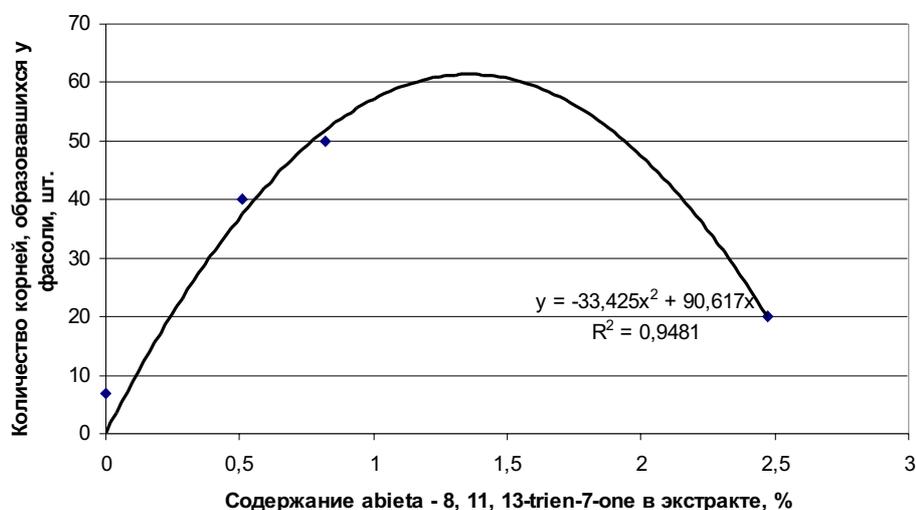


Рис. 2. Зависимость между содержанием абieten-8,11,13-триен-7-он в экстракте и количеством корней, образовавшихся у черенков фасоли

в экстрактах. Найдены сильные корреляционные зависимости ($r = 0,90—0,99$) между ризогенезом фасоли и содержанием дитерпенов в исходной еловой коре и компостах на ее основе.

Литература

1. Ломовский О. И., Болдырев В. В. Механохимия в решении экологических задач: аналит. обзор. — Новосибирск: ГПНТБ СО РАН, 2006. — 221 с.
2. Ушанова В. М., Заика Н. А., Громовых Т. И. Альтернативные пути использования коры хвойных в различных технологиях // Химия и химическая технология. — 2006. — Т. 49. — С. 72—77.
3. Варфоломеев Л. А. Приготовление промышленных компостов на основе твердых отходов деревообработки. — М.: ВНИИТЭИагропром, 1992. — 52 с.
4. Садовникова Л. К., Орлов Д. С., Лозановская И. Н. Экология и охрана окружающей среды: учеб. пособие. — 3-е изд., перераб. — М.: Высш. шк., 2006. — 334 с.
5. Степень Р. А., Ренях С. М. Запасы терпеноидных соединений в сосновых лесах Красноярской лесостепи // Сибирский экологический журнал. — 2005. — № 1. — С. 113—116.
6. Кириенко О. А., Имранова Е. Л. Влияние корокомпоста на плодородие осушенной лугово-глеевой почвы // Агрохимия. — 1998. — № 7. — С. 35—40.
7. Ульянова О. А., Чупрова В. В., Луганцева М. В., Кулебакин В. Г. Получение удобрительных композиций и влияние их на содержание и состав органического вещества в черноземе обыкновенном Красноярской лесостепи // Агрохимия. — 2007. — № 6. — С. 42—49.
8. Куликова Н. Н. Экологическая оценка органоминеральных компостов из отходов Селенгинского целлюлозно-картонного комбината: автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Иркутск, 2003. — 20 с.
9. Ульянова О. А. Трансформация органического вещества почвы под действием композиций из древесной коры и цеолита // Плодородие. — 2009. — № 2. — С. 23—25.
10. Ульянова О. А., Тарабанько В. Е. Изучение биологической активности водных экстрактов из коры лиственницы и компостов на ее основе // Вестник КрасГАУ. — 2009. — № 6. — С. 93—97.

11. Турецкая Р. Х. Метод определения активности веществ, стимулирующих корнеобразование // Методы определения регуляторов роста и гербицидов. — М.: Наука, 1966. — С. 15—20.

12. Tarabanko V. E., Ulyanova O. A., Kalachova G. S., Chuprova V. V., Tarabanko N. V. Study of plant growth promoting activity and chemical composition of pine bark after various storage periods // Journal of Siberian Federal University. Chemistry. — 2008. — № 4. — P. 363—368.

13. Гэлстон А., Девис П., Сэттер Р. Жизнь зеленого растения. Пер. с англ. — М.: Мир, 1983. — 552 с.

14. David T., Dennis C., West A. Biosynthesis of Gibberellins // Journal of Biological Chemistry. — 1967. — Vol. 242. — № 14. — P. 3293—3300.

О. А. Ульянова¹, В. Е. Тарабанько²

¹ Красноярский государственный аграрный университет,
пр. Миру, 90, Красноярск, 660049, Россия

² Институт химии и химической технологии СО РАН СО РАН,
ул. К. Маркса, 42, Красноярск, 660049, Россия

РОСТ-СТИМУЛЮЮЧА АКТИВНІСТЬ КОМПОСТІВ НА ОСНОВІ ЯЛИНОВОЇ КОРИ ТА ВМІСТ У НИХ ДИТЕРПЕНІВ

Резюме

Методом хромато-масс-спектрометрії досліджено хімічний склад ялинової кори. Досліджено рост-стимулюючу активність водних екстрактів кори. Для бобових рослин встановлено кореляційну залежність ($r = 0,90—0,99$) між рост-стимулюючою активністю зазначених водних екстрактів та вмістом дитерпенів у корі.

Ключові слова: ялинова кора, гексановий екстракт, дитерпени, водний екстракт, рост-стимулююча активність.

O. A. Ulyanova, V. E. Tarabanko

¹ Krasnoyarsk State Agrarian University,
Krasnoyarsk, pr. Mira, 90, 660049, Russia

² Institute of Chemistry and Chemical Technology of SB RAS,
Krasnoyarsk, K. Marksa st., 42, 660049, Russia

GROWTH-STIMULATING ACTIVITY OF COMPOSTS BASED ON PICEA BARK AND DITERPENE CONTENT IN IT

Summary

The chemical composition of Picea bark was studied by GLC-MS. The growth stimulating activity of bark water extracts was researched. There were determined correlation dependences ($r = 0,90—0,99$) between the growth stimulating activity of barks' water extracts and content of diterpene.

Key words: fir bark, hexane extract, diterpene, water extract, growth stimulating activity.