КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ РЕСУРСНЫХ ВИДОВ

ВНУТРИСЕЗОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ СОСТАВА ЛЕТУЧИХ ТЕРПЕНОИДОВ В ЛИСТЬЯХ И ЦВЕТКАХ *RHODODENDRON LEDEBOURII* (ERICACEAE) В УСЛОВИЯХ ИНТРОДУКЦИИ (г. КРАСНОЯРСК)

© Н. А. Тихонова, 1 А. А. Анискина, Е. Н. Муратова

Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН, г. Красноярск ¹ E-mail: fenix-sun@yandex.ru

Изучен компонентный состав летучих терпеноидных соединений в листьях и цветках *Rhododendron ledebourii* в течение вегетационного сезона в условиях интродукции. Всего обнаружено 138 соединений (из которых идентифицировано 71), из них 124 — в листьях и 37 — в цветках. Установлены особенности динамики количественного и качественного состава газовой фракции терпеноидов отдельно в листьях и цветках первого и второго цветения. Отмечены индивидуальные различия между растениями по составу и динамике изменения процентного соотношения терпеноидов. Максимальное разнообразие летучих соединений в листьях наблюдалось в июле.

Ключевые слова: *Rhododendron ledebourii*, состав терпеноидов, динамика, вегетационный период, интродукция.

Рододендрон Ледебура *Rhododendron ledebourii* Pojark. — раннецветущий, высоко декоративный кустарник высотой от 0.5 до 3 м. Цветет в конце апреля—начале мая, но как в природе, так и в условиях интродукции нередко наблюдается повторное цветение в августе—сентябре. Вид широко распространен в Алтае-Саянском регионе Сибири. Он является ценным лекарственным, эфирномасличным и медоносным растением.

В ряде работ последних лет появились сведения о составе терпеноидов некоторых видов рододендронов, таких как *R. ledebourii*, *R. dauricum* L., *R. sichotense* Pojark., *R. mucronulatum* Turcz., *R. adamsii* Rehder, *R. parvifolium* Adams. и *R. aureum* Georgi, произрастающих в Сибири и на Дальнем Востоке [1, 2, 3, 4]. Как известно, рододендроны — это насекомоопыляемые растения и состав тепеноидов в их цветках имеет важное значение для семенной репродукции, так как некоторые легколетучие соединения обладают свойствами привлекать или отпугивать насекомых [5]. Тем не менее состав терпеноидных соединений в генеративных органах *R. ledebourii* ранее не изучался. Кроме того, нет данных о динамике изменения состава терпеноидов в течение вегетационного сезона, что необходимо учитывать при характеристике компонентного состава эфирного масла. Изучение динамики состава терпеноидов и индивидуальной из-

менчивости масла позволит уточнить примерный размер выборки растений, необходимый для получения репрезентативных данных.

Настоящая работа посвящена изучению индивидуальной изменчивости и динамики компонентного состава моно- и сесквитерпенов в листьях и цветках *R. ledebourii* в условиях интродукции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Образцы для анализа (листья и цветки) были собраны в 2011 г. в дендрарии Института леса Сибирского отделения РАН в верхней части куста у шести растений *R. ledebourii* в четырехкратной повторности. Листья собирали четыре раза в течение всего вегетационного периода (один раз в месяц). Цветки собирали в конце апреля и в конце августа; т. е. в начале и в конце вегетационного периода, когда наблюдалось повторное цветение. Цветки и листья разрезали на части и помещали в герметичные виалы «Agilent» емкостью 20 мл, которые хранили в холодильнике до исследования.

Определение качественного компонентного состава образцов выполняли на хромато-масс-спектрометре «Agilent 5975С-7890А» (США) с использованием парофазного пробоотборника HeadSpace Sampler G1888. Применяли 30-метровую кварцевую колонку HP-5 (сополимер 5 %-дифенил-95 %-диметилсилоксан) с внутренним диаметром 0.25 мм. Газ-носитель — гелий с постоянным потоком 1.1 мл/мин. Температура колонки: начальный изотермический участок 50 °С (10 мин), подъем температуры со скоростью 4 °С/мин от 50 до 200 °С. Параметры парофазного пробоотборника: температура термостата 100 °С, петли — 110 °С, НЅ-интерфейса — 115 °С, время выдержки образца в термостате пробоотборника 7 мин. Температура испарителя 280 °С, ионизационной камеры — 170 °С, энергия ионизации 70 эВ.

Идентификацию компонентов проводили методом сравнения масс-спектров исследуемых образцов с данными библиотеки «NIST05a.L » и газохроматографических стандартов индивидуальных соединений (α -пинена, β -пинена, камфена, мирцена, Δ^3 -карена, лимонена, камфоры, терпинолена, α -фелландрена, борнеола и борнилацетата) фирм «SIGMA-ALDRICH» и «FLUKA», а также с помощью линейных индексов удерживания, используя программу AM-DIS.

Для каждого компонента определяли его процентное содержание в образце. Для анализа данных использовали стандартные статистические методы [6]. Достоверность различий оценивали с помощью t-критерия, индивидуальную изменчивость — с помощью коэффициента изменчивости (C_v).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного анализа в листьях было выявлено 124 компонента (в том числе 55 неидентифицированных), в цветках — 37. Общими для листьев и цветков оказалось 21 соединение (см. таблицу). Максимальное число терпеноидных углеводородов в листьях содержалось в июле (83), минимальное — в мае (44), в июне и августе — по 66 и 80 компонентов соответственно. Следует отметить, что содержание многих соединений существенно варьирует в разные месяцы вегетации.

Из общего числа выявленных соединений на протяжении всего вегетационного сезона в листьях присутствовали только 28 соединений: из них 17 мо-

Состав терпеноидов в листьях и цветках Rhododendron ledebourii в период вегетации

The composition of terpenoids in the leaves and flowers of *Rhododendron ledebourii* during the vegetation period

Retain index	Components	Leaves				Flowers					
		May	June	July	August	May	August				
Monoterpenes											
901	Tricyclen	0.39	0.30	0.48	0.56	0.27	_				
910	α-Thujene	_	0.18	0.20	0.12	_	_				
920	α-Pinene	38.73	26.36	37.67	28.81	9.31	3.73				
937	Camphene	3.49	3.71	4.50	4.40	3.03	0.77				
971	Sabinene	0.62	1.28	3.62	2.20	_	_				
972	β-Pinene	6.62	9.58	9.67	5.97	1.98	2.08				
994	β-Myrcene	2.32	2.41	7.13	5.05	0.16	_				
1005	α-Phellandrene		0.29	0.34	0.24	_	_				
1012	Δ^3 -Carene	0.04	0.10		0.22	_	_				
1020	α-Terpinen	0.03	0.19	0.28	0.21						
1025	Creosol	_	0.28	0.17	0.20		_				
1030	n-Cymene	0.26	0.18	0.27	0.35						
1036	Limonene	4.72	3.83	4.99	5.11	1.25	0.26				
1037	Eucalyptol	0.06	3.03	1.55	3.11	1.23	0.20				
1037	trans-β-Ocymene	0.00	0.79	1.85	1.26						
1059	cis-β-Ocymene	0.20	0.73	0.71	0.43						
1069	τ-Terpinen	0.17	0.55	0.71	0.45		_				
1076	Acetophenone	0.17	0.55	0.92	0.00						
1078	Terpinolen	0.04	0.14	0.00	0.02						
1112	Linalool	0.04	0.14	1.07	0.29						
1117	Nonanal	0.03	0.16	1.07	0.42	0.43					
1117	Fenchol	0.20		0.04	0.08	0.43					
1122			_	0.04	0.08		1.04				
1123	Phenylethanole α-Kamfolenal	0.22	_	_	0.04		1.04				
1140	Alloocymene	0.22	0.19	0.42	0.04		_				
1171	Borneol	0.00		0.42	0.23		0.15				
		_	0.17			_	0.15				
1182	Terpineol-4	0.10	0.05	0.07	0.07	_	_				
1193	Terpineol	0.18	0.06	0.23	0.41	2.74	1.47				
1294	Bornyl acetate	0.98	1.43	1.74	1.49	1 2.74	1.47				
	I.	1	terpenes	I	I	I	ſ				
1356	α-Cubebene	0.11	0.07	_	_	_	_				
1377	Ylangene	_	0.09	0.14	0.22	_	_				
1381	Copaene	0.06	0.24	0.38	0.43	_	_				
1390	β-Bourbonene	0.04	0.18	0.21	0.11	_	_				
1397	β-Elemene	_	0.09	_	_	_	0.19				
1425	Caryophyllene	0.19	0.86	0.79	0.59	0.24	0.86				
1426	Aristolene	_	_	_	0.09	_	_				
1432	Elixene	_	0.21	_	_	_	0.45				
1434	β-Cubebene	_	0.11	0.05	_	_	_				
1435	β-Gurjunene	0.14	0.42	0.42	0.65	_	—				
1437	τ-Elemene	_	3.42	0.13	_	_	2.93				
1441	Valencen	_	0.06	_	_	_	0.32				
1443	α-Bergamotene	_	_	0.04	0.05	_	_				
1446	Aromadendren	0.10	_	0.15	0.07	_	_				

Продолжение таблицы

Retain index	Components	Leaves				Flowers	
		May	June	July	August	May	August
1461	α-Caryophyllene (Humulene)	_	0.10	0.08	_	_	
1465	β-Farnesene	0.21	0.37	1.11	1.35	_	
1485	τ-Muurolene	0.16	0.73	0.68	0.81	0.12	
1490	Germacrene D	_	0.09	0.05	_	0.27	0.19
1495	Cadina-1,4-diene	0.32	0.96	0.89	1.18	_	_
1499	δ-Selinene	_	_	0.15	0.55	_	_
1504	α-Selinene	0.47	1.08	0.97	1.08	_	1.11
1509	α-Amorphene	0.11	_		_	_	_
1510	α-Muurolene	_	0.12	0.18	0.26	_	_
1511	β-Bisabolene	_	_	0.06	0.03	_	_
1514	σ-Cadinene	0.22	0.08		_	0.13	_
1519	τ-Cadinene	0.09	0.30	0.29	0.26	_	_
1524	β-Himachalene	_	0.14	_	_	_	_
1528	Epizonarene	_	_		2.54	_	_
1532	δ-Cadinene	_	_	0.63	_	_	0.12
1533	β-Cadinene	_	0.93	1.10	0.75	_	_
1547	Guaia-3,9-diene	_	9.68	4.78	14.05	_	_
1550	Selina-3,7(11)-diene	0.48	8.15	3.79	21.39	_	0.57
1565	α-Farnesene	_	0.27	_	_	_	_
1571	Nerolidol	_	_	0.25	0.49	_	_
1602	β-Elemenone	_	5.67	1.94	4.87	_	1.57
1639	Hinesol	_	0.06	0.09	_	_	_
1641	τ-Eudesmol	_	_	0.12	0.14	_	_
1660	β-Eudesmol	_	0.18	0.16	0.16	_	_
1663	α-Eudesmol	_	0.39	0.36	0.41	_	_
1707	Germakron	0.11	3.41	1.19	2.75	_	1.06

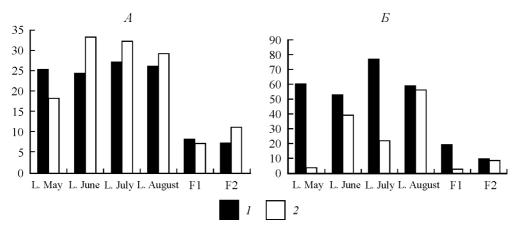
Примечание. Прочерк означает отсутствие компонента.

Note. A dash means the absence of components.

нотерпенов (трициклен, α -пинен, камфен, сабинен, β -пинен, β -мирцен, α -терпинен, n-цимен, лимонен, mpanc- β -оцимен, μuc - β -оцимен, τ -терпинен, терпинолен, линалоол, аллооцимен, терпинеол, борнилацетат) и 11 сесквитерпенов (копаен, β -бурбонен, β -фарнезен, β -гурьюнен, кариофиллен, селина-3,7(11)-диен, кадина-1,4-диен, гермакрон, τ -кадинен, τ -мууролен, α -селинен).

Основными компонентами в листьях, с содержанием более 1 %, были α -пинен (26.4—38.7 %), селина-3,7(11)-диен (3.8—21.4 %), гвайя-3,9-диен (4.8—14.1 %), β -пинен (6.0—9.7 %), β -мирцен (2.3—7.1 %), лимонен (3.8—5.1 %), β -элеменон (2.0—5.7 %), камфен (3.5—4.5 %), сабинен (0.6—3.6 %), гермакрон (0.1—3.4 %), борнилацетат (1.0—1.7 %), *транс*- β -оцимен (0.3—1.8 %), β -фарнезен (0.2—1.4 %), кадина-1,4-диен (0.3—1.2 %) и α -селинен (0.5—1.1 %). По данным М. В. Белоусова и др. [1], у *R. ledebourii* отмечено преобладание части перечисленных соединений: борнилацетата, камфена, α - и β -пинена, β -мирцена, а также кариофиллена и гермакрена D.

Наиболее изменчивыми по содержанию в течение вегетационного сезона оказались β -элемен, β -химахален, эликсен, валенцен и α -фарнезен, которые обнаружены только в образцах, собранных в июне. β -Бизаболен, α -бергамотен, τ -эвдесмол, неролидол, фенхол, δ -селинен и ацетофенон накапливались в



Динамика соотношения моно- и сесквитерпеновых фракций в листьях и цветках *Rho-dodendron ledebourii*.

A — численное соотношение; E — относительное количественное соотношение, %. I — монотерпены, 2 — сесквитерпены. По горизонтали — L — листья; May, June, July, August — месяц сбора материала; E 1 — цветки первого цветения; E 2 — второго цветения; E 2 — второго цветения; E 3 — ношение, %.

The dynamics of ratio of mono- to sesquiterpene fractions in leaves and flowers of *Rhodo-dendron ledebourii*.

A — numerical ratio; B — the relative quantitative ratio, %. I — monoterpenes, 2 — sesquiterpenes. X-axis — L — leaves; May, June, July, August — period of collecting of material; F 1 — flowers of the first flowering; F 2 — flowers of the second flowering; y-axis — the ratios, %.

конце вегетационного периода (июль—август) и только в мае у одного растения был обнаружен эвкалиптол.

На протяжении вегетационного сезона относительное содержание в листьях β -фарнезена, β -гурьюнена, терпинолена, илангена, копаена и Δ^3 -карена постепенно увеличивалось, тогда как содержание большинства других соединений было максимальным в июле и затем снижалось к августу.

В цветках мажорными компонентами оказались α -пинен (3.7—9.3 %), борнилацетат (1.5—2.7 %), β -пинен (2.0—2.1 %), камфен (0.8—3.0 %) и лимонен (0.3—1.3 %). Во время повторного цветения по сравнению с первым отмечено снижение содержания α -пинена, борнилацетата, камфена, лимонена и гермакрена D и, напротив, повышение содержания β -пинена и кариофиллена. Постоянными компонентами в образцах первого и второго цветения были только α -пинен, β -пинен, камфен, кариофиллен, лимонен, гермакрен D и борнилацетат, которые присутствовали также и в листьях.

Анализ соотношения числа и содержания моно- и сесквитерпеноидов в разных образцах показал (см. рисунок), что в начале вегетационного сезона в листьях преобладали монотерпеноиды (21 против 16). В июне, наоборот, число сесквитерпеноидов увеличивалось до 30 на фоне незначительного увеличения числа (до 23) монотерпеноидов. Аналогичное соотношение (31 к 24) наблюдалась в образцах листьев, собранных в июле. В августе число моно- и сесквитерпеноидов было почти одинаковым (26 и 27 соответственно). Сходная динамика обнаружена и в образцах цветков: во время первого цветения численно и по относительному содержанию преобладали монотерпеноиды, а во втором — сесквитерпеноиды.

Наши исследования, проведенные на небольшой выборке растений, показали высокий уровень индивидуальной изменчивости содержания выделенных у рододендрона Ледебура летучих терпеноидов, в том числе и соединений, содержание которых было выше 1 %.

Число веществ, выделенных у отдельных особей за весь вегетационный сезон, варьировало от 39 до 64. У большинства растений их разнообразие возрастало к июлю, однако у нескольких растений максимальное число веществ отмечалось в июне, а у одного растения наблюдалось два максимума — в мае и июле. Более того, это растение отличалось от всех других иной динамикой состава некоторых соединений. Так, например, в мае в образцах только этой особи был обнаружен α -терпинен, тогда как в июне — у всех растений, кроме этого экземпляра. В июне и августе у этого же растения в отличие от других образцов отсутствовали борнилацетет, β -пинен, β -мирцен, mpanc- β -оцимен, камфен, τ -мууролен и α -феллендрен.

Так как бо́льшая часть выделенных компонентов характеризуется очень высокой индивидуальной изменчивостью (ошибки измерения достигали 60 %), для повышения достоверности результатов объем выборки должен составлять не менее 100 растений. В этом случае ошибка будет не более 15 % при уровне значимости P > 0.95. Однако, если ограничиться исследованием соединений с менее высоким уровнем изменчивости (до 30 %), выборка может быть уменьшена до 10—15 растений.

выводы

В результате изучения компонентного состава летучих терпеноидных соединений в листьях и цветках *Rhododendron ledebourii* Pojark. в течение вегетационного сезона в условиях интродукции было обнаружено 138 соединений (из которых идентифицировано 71), из них 124 — в листьях и 37 — в цветках. От начала и до середины вегетационного периода (конца июля) происходит постепенное увеличение состава терпеноидов и в августе—сентябре — постепенное их уменьшение. Максимальное разнообразие летучих соединений в листьях наблюдалось в июле. В листьях и цветках в начале вегетационного сезона значительно больше содержалось монотерпеноидов, а в августе — сесквитерпенов.

Образцы растений отличались очень высокой индивидуальной изменчивостью по содержанию терпеноидов, поэтому для получения более полной картины их разнообразия целесообразно проводить сравнительный анализ образцов отдельных особей, выборка которых должна составлять до 100 экземпляров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Белоусов М. В., Басова Е. В., Юсубов М. С., Березовская Т. П., По-кровский Л. М., Ткачев А. В. Эфирные масла некоторых видов рода *Rhododendron* L. // Химия раст. сырья. 2000. № 3. С. 45—64.
- 2. Мирович В. М., Коненкина Т. А., Федосеева Г. М. Компонентный состав эфирного масла рододендронов Адамса и мелколистного, произрастающих в Восточной Сибири // Сиб. мед. журн. 2008. № 1. С. 79—82.
- 3. Рогачев А. Д. Фитохимическое исследование *Rhododendron adamsii* Rehder: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 2009. 18 с.

- 4. Карпова Е. А., Каракулов А. В. Фенольные соединения близкородственных видов рода *Rhododendron* L. (Ericaceae) // Turczaninowia. 2011. № 14 (3). С. 145—149.
- McGarvey D. J., Croteau R. Terpenoid metabolism // The Plant Cell. 1995. Vol. 7, N 7. P. 1015—1026.
- 6. Шмидт В. М. Математические методы в биологии. Л., 1984. 288 с.

Поступило 11 II 2013

SEASONAL DYNAMICS OF VOLATIVE TERPENOID COMPOSITION IN THE LEAVES AND FLOWERS OF *RHODODENDRON LEDEBOURII* (ERICACEAE) UNDER THE INTRODUCTION (KRASNOYARSK)

© N. A. Tikhonova, A. A. Aniskina, E. A. Muratova

V. N. Sukachev Institute of Forest of the RAS, Krasnoyarsk

1 E-mail: fenix-sun@yandex.ru

SUMMARY

The component composition of terpenoid compounds in leaves and flowers of *Rhododendron ledebourii* Pojark. during the growing season under the introduction conditions was investigated. 138 compounds were identified in total, 124 of them were in leaves and 37 in flowers.

The dynamics pattern of terpenoid proportion was detected: the diversity of volatile compounds increased since the beginning of vegetation period to the end of July, and gradually decreased since August to September; the maximal content of monoterpens was found in the beginning of growing season, the sesquiterpens dominated at the end of vegetation period both in leaves and flowers.

R. ledebourii was characterized by high individual variation of terpenoid carbohydrate composition, with alterations in individuals from 39 to 64 compounds during vegetation period.

Investigations demonstrated that the plants should be studied individually during vegetation period in order to estimate the chemical diversity in plants. The chemical form that was uncommon for the studied selection was found in the study of individual compound dynamics. Collection of material over all vegetative season resulted in the increase of numbers of terpenoid quantity by 52 compounds in comparison with single herborization in July that was the period of maximal leaf growth and the end of shoot growth.

In the case of single herborization, the middle up to the end of July could be the optimal period for collection, when the maximal diversity of compounds was noted in the leaves.

Key words: *Rhododendron ledebourii*, terpenoid composition, dynamics, vegetation period, introduction.

REFERENCES

- 1. Belousov M. V., Basova E. V., Yusubov M. S., Berezovskaya T. P., Pokrovskiy L. M., Tkachev A. V. Essential oils in some *Rhododendron* L. species // Khimija Rastitelnogo Syriya. 2000. N 3. S. 45—64. (In Russian)
- 2. Mirovich V. M., Konenkina T. A., Fedoseeva G. M. Components composition of essential oil of rhododendrons Adamsii and parvifolium which grows in Eastern Siberia // Sibirskiy meditsinskiy zhurnal. 2008. N 1. S. 79—82. (In Russian)
- 3. Rogachev A. D. Phytochemistryc investigation of *Rhododendron adamsii* Rehder: Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. Novosibirsk, 2009. 18 s. (In Russian)
- 4. Karpova E. A., Karakulov A. V. Phenolic compounding of closely related species of *Rhododendron* L. (Ericaceae) genus // Turczaninowia. 2011. N 14 (3). S. 145—149. (In Russian)
- 5. McGarvey D. J., Croteau R. Terpenoid metabolism // The Plant Cell. 1995. Vol. 7. P. 1015—1026.
- 6. Shmidt V. M. Mathematical methods in the biology: text edition. Leningrad, 1984. 288 p. (In Russian)

Раст. ресурсы, вып. 1, 2015

СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ И ПЛОДАХ VACCINIUM VITIS-IDAEA И OXYCOCCUS PALUSTRIS (ERICACEAE) В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ВЕГЕТАЦИИ

© Е. В. Березина, А. А. Брилкина, А. П. Веселов

Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, г. Нижний Новгород

¹ E-mail: berezina.kat@gmail.com

Определено содержание фенольных соединений (суммарное содержание и содержание флавоноидов, катехинов и антоцианов) в листьях и ягодах брусники обыкновенной $Vaccinium\ vitis-idaea$ и клюквы болотной $Oxycoccus\ palustris$ в различные периоды вегетации в трехлетнем цикле исследований. Наряду с этим, проведен химический анализ почвы из мест произрастания объектов исследований. Показано, что в листьях $V.\ vitis-idaea$ накапливалось больше веществ фенольной природы, чем в листьях $O.\ palustris$; кроме того, у $V.\ vitis-idaea$ более стабильно выражена общая закономерность в накоплении исследуемых метаболитов в листьях по фенофазам (количество полифенолов в периоды плодоношения и набухания почек выше, чем в период цветения). Выявлено, что суммарное содержание фенольных соединений в листьях $V.\ vitis-idaea$ и $O.\ palustris$ больше, чем в ягодах, примерно на один порядок, а флавоноидов — на один-два порядка. Однако у обоих видов ягоды превосходили листья по количеству антоцианов.

Ключевые слова: Vaccinium vitis-idaea, Oxycoccus palustris, фенольные соединения, флавоноиды, катехины, антоцианы.

Интерес к растительным фенольным соединениям определяется их широким распространением в растительном царстве и высокой биологической активностью. Качественный и количественный анализ фенольных веществ, изу-