

А. Л. Ефремов, профессор;

В. Г. Свирновская, ст. преподаватель МГЭУ им. А. Д. Сахарова;

С. Н. Кучук, мл. науч. сотрудник ЦБС НАН Беларуси

БИОГЕННАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ЛИСТОВОГО ОПАДА НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ИНТРОДУЦЕНТОВ РОДА *JUGLANDS* L.

Biogenic transformation of a leaf fall of some species of a family Juglands indexes of the contents of cellulose, ash, nitrogen and calcium more intensive in dry leaves of *Juglands mandshurica*, than at *J. cinerea* and *J. regia*, but on dynamics of polyphenolic components it lowest concerning the specified kinds. By results of correlation analysis of analytical assays are revealed: close positive connection between the contents in leaf fall of calcium and cellulose, below correlation communication between sizes of a cellulose and ashes, the negative correlation connections are revealed between cinder composition and phenolic complexes: the fixed correlations testify to a sorption of leach in tissues sell walls of some species of a family *Juglands*. The cellulose, having high sorption properties, reduces inhibiting function, and the calcium promotes downstroke of an acidity of surroundings. Polyphenolums oppress growth processes being natural inhibitors, their accumulation in environment conducts to the allelopathic phenomena and toxicosis of the soils.

Введение. Введение в культуру растений из других природно-климатических зон – есть процесс интродукции, где несомненно важным является система адаптации растений и создание наиболее оптимальных условий их выращивания, формирования их устойчивости к новым антропогенным факторам. В последние годы уделяется внимание формированию фонда экологического биоразнообразия и биологических ресурсов конкретных регионов и привлечению новых сельскохозяйственных растений, а также актуальными остаются вопросы охраны окружающей среды, в частности поиска новых растений, способных поглощать и сорбировать вредные воздушные примеси [1]. Создание культур интродуцентов позволяет контролировать их рост и развитие, в процессе которых в листовом материале их опада в течение вегетационного периода накапливаются биогенные элементы, формирующие биологическую активность и аллелопатическую токсичность [2].

Фитоопад в процессе роста древесных растений и его трансформации в различных экологических условиях заметно теряет белковые соединения, их производные, углерод, азот, фосфор, накапливает нитраты и другие токсические вещества, превращение и поступление которых в почву способствует истощению, низкой интенсивности микробного метаболизма, потере биологической активности и деградации почв.

Представленный материал касается результатов оценки биогенного состава листового материала некоторых представителей рода Ореховых, интродуцированных в дендрарии ЦБС НАН Беларуси с целью внедрения этих видов в защитные городские и придорожные посадки и возможности выявления их техногенно- и радиопротектерных свойств.

Материалы и методы исследований. В качестве объекта исследований были выбраны смешанные пробы фитоопадного материала *Juglans regia* L., *J. mandshurica* Maxim., *J. Cinerea* L. (ореха грецкого, ореха маньчжурского, ореха серого), интродуцированных в дендрарии ЦБС НАН Беларуси (табл. 1). Образцы отбирались в конце вегетационного периода (сентябрь – октябрь 2006 г.).

Фитопробы исследовали по общепринятым агрохимическим и физиологическим методикам [3]: оценка гигроскопической влажности, зольности – окислением в муфельной печи, содержания кальция в зольном осадке – с применением трилона Б, азота – по Кьельдалю, клетчатки – щелочным гидролизом, полифенолов – на приборе Варбурга по активности полифенолоксидазы.

Результаты статистически обрабатывались в рамках регрессионно-корреляционного анализа в программном пакете EXCEL [3].

Определение зольности. Навеску средней пробы массой 1 г прокалывают в муфельной печи при температуре 520°C в течение 1,5–2 ч. После сухого термоозоления чашки с навесками охлаждают до комнатной температуры и взвешивают на аналитических весах. Озоление считается законченным, если разница двух последних взвешиваний не превышает ±0,0005 г.

Количество золы (Z , %) рассчитывают по следующей формуле:

$$Z = \frac{a \cdot 100\%}{n}, \quad (1)$$

где a – масса золы, г; n – навеска воздушно-сухого материала, взятого для озоления, г.

Определение азота в опаде по Кьельдалю. Содержащиеся в фитомассе опада азотистые органические вещества при нагревании

с серной кислотой разрушаются, и весь азот превращается в аммиачные соединения.

Серная кислота действует как окислитель, окисляя углерод органического вещества в углекислоту, а водород в воду, серная кислота раскисляется в сернистый газ, азот восстанавливается в аммиак, который связывается с серной кислотой в виде сульфата аммония. Образовавшийся сульфат аммония разлагают до аммиака прибавлением избытка щелочи, аммиак отгоняют в приемник с титрованной серной кислотой в виде сульфата аммония.

Навеску от 3 до 5 г, растертую до порошка, помещают в колбу Кьельдаля и приливают 20–25 мл H_2SO_4 (уд. вес 1,84). В колбу вносят 0,05–0,10 г металлического селена или 2–3 г смеси (1 г K_2SO_4 + 3 г $CuSO_4$), перемешивают и нагревают на горелке до обесцвечивания жидкости.

После охлаждения содержимое колбы разбавляют водой и переносят в колбу для отгона аммиака. Прибавляют 80–100 мл 50%-ного раствора $NaOH$ для вытеснения аммиака. Отгоночную колбу присоединяют к холодильнику и энергично встряхивают. Предварительно в приемник вносят 50 мл титрованного 0,05 н. раствора H_2SO_4 и несколько капель индикатора метилрота. Аммиак с парами воды перегоняют до того мо-

мента, когда в нескольких каплях дистиллята перестанет появляться желтое окрашивание от реактива Несслера, избыток H_2SO_4 титруют 0,05 н. раствором $NaOH$ в присутствии индикатора метилрота.

Определение полифенолоксидазы (О-дифенол: O_2 – оксидоредуктаза, 1.10.3.1). Метод основан на учете затраченного на окисление кислорода, добавленного к размолотому опад пирогаллола, с помощью прибора Варбурга. К навеске высушенного опада (1 г) в сосуде добавляют 0,5 мл 0,15 М фосфатного буфера (рН = 5,6). Во внутренний стаканчик наливают 0,2 мл 20%-ной КОН для поглощения CO_2 , в боковую подвижную реторту – 2 мл 0,8%-ного раствора пирогаллола. Сосуд герметически соединяется с манометром и погружается в термостатную ванну, после 15–20 мин раствор пирогаллола из боковой реторты приливают к навеске, закрывают кран манометра и через каждые 15 мин проводят отсчет поглощенного кислорода. Активность полифенолоксидазы измеряют в мкл O_2 за 1 ч на 1 г высушенной растительной массы.

Определение клетчатки. Химические методы определения клетчатки основаны на окислении, растворении и разрушении химических веществ, входящих в состав растений, не затрагивая при этом клетчатки.

Таблица 1

Интродуценты рода *Juglans* L. – Ореховые в ЦБС НАН Беларуси

Вид	Естественный ареал	Откуда и когда получен исходный материал	№ участка в дендрарии
<i>J. cjriformis</i> Maxim. (Орех сердцевидный)	Япония	Калининград, 1960	58
		Владивосток, 1950	53
		Горки, БСХА, 1937	68
		Киев, Голосеево, 1972	57
<i>J. cinerea</i> L. (Орех серый)	Северная Америка от побережья Атлантического океана до р. Миссисипи	Горки, БСХА, 1930	90
		Горки, БСХА, 1937	64
		Горки, БСХА, 1937	51
<i>J. hindsii</i> Jeps. (Орех Гиндса)	Северная Америка – Калифорния	Тбилиси, 1960	68
		Душанбе, 1960	68
<i>J. mandshurica</i> Maxim (Орех маньчжурский)	Дальний Восток, юг Хабаровского и Приморского края; Северный Китай	Москва, 1931	90
			72
			53
<i>J. nigra</i> L. (Орех черный)	Северная Америка от Массачусетса до Флориды и Техаса	ВНИИЛАМИ, 1935	91
		Кишинев, 1962	68
		Денау, УзССР, 1958	70
<i>J. regia</i> L. (Орех грецкий)	Средняя Азия, юг Балканского п-ва, Иран, Афганистан, Гималаи, Китай	Фрунзе, 1964	40
		Фрунзе, 1961	40
		Кишинев, 1962	91

Этот метод основан на последовательной обработке навески смесью концентрированных кислот, щелочью, спиртом, эфиром. После воздействия всех растворителей в остатке получают «сырую» клетчатку, поскольку полностью удалить сопутствующие вещества (гемицеллюлозу, лигнин, пробковые ткани) довольно трудно. Навеска растительного материала ($1 \pm 0,0001$) г помещается в коническую колбу объемом 300 мл. Беззольный фильтр высушивают до постоянного веса при 105°C , помещают в эксикатор и взвешивают с точностью до $\pm 0,0001$ г. В колбу приливают 30 мл смеси концентрированных кислот (5 объемов HNO_3 : 100 объемов 80% CH_3COOH). Закрывают пробкой с обратным холодильником. Ставят колбу в кипящую водяную баню на 1–2 ч.

Надосадочная жидкость приобретает красно-бурую окраску, и навеска осветляется. Фильтр помещают в воронку Бюхнера. Горячий раствор после гидролиза навески фильтруют, отсасывая надосадочную жидкость водоструйным насосом. Осадок два раза промывают 10 мл раствора горячей 0,2 М спиртовой щелочью, которая извлекает смолы, дубильные, красящие вещества, остатки жира, воска, белковых соединений.

Фильтр с промытым осадком кладут на часовое стекло, высушивают при 105°C до постоянного веса, помещают в эксикатор и взвешивают. Содержание клетчатки (C_k , %) вычисляют по следующей формуле:

$$C_k = \frac{(a - b)100\%}{n}, \quad (2)$$

где a – масса фильтра с осадком, г; b – масса фильтра, г; n – масса навески, г.

Определение гигроскопической влажности. В лаборатории опытный алюминиевый или стеклянный стаканчик (бюкс) просушивают до постоянного веса в сушильном шкафу при температуре 100 – 105°C , охлаждают в эксикаторе и взвешивают на аналитических весах.

В стаканчик насыпают 0,5 г воздушно-сухой массы. Слой в бюксе не должен превышать 5 мм. Стаканчик взвешивают на весах с точностью до тысячных долей грамма.

Навеску фитопробы опавшей листвы интродуцентов ореховых в стаканчике сушат в сушильном шкафу 5 ч, стаканчик закрывают крышкой, охлаждают в эксикаторе с CaCl_2 и взвешивают. Затем просушивают снова 2 ч. Если разница во взвешивании после 1-й и 2-й сушек не превышает 0,003 г, тогда просушивание заканчивают.

Влажность (W_g , %) рассчитывают по следующей формуле:

$$W_g = \frac{b - c}{c - a} 100\%, \quad (3)$$

где b – масса стаканчика с опадом до высушивания, г; c – масса стаканчика с пробой после высушивания, г; a – масса пустого стаканчика, г.

Коэффициент пересчета полученных результатов с воздушно-сухой фитомассы опада ореховых на абсолютно-сухую массу называется коэффициентом гигроскопичности ($K_{\text{H}_2\text{O}}$) и вычисляется по формуле, используемой при расчетах гигроскопической влажности растительных и почвенных образцов:

$$K_{\text{H}_2\text{O}} = \frac{100 + W_g}{100}, \quad (4)$$

Результаты и их обсуждение. В исследованном опаде представленных трех видов рода Ореховых (табл. 2, [1]) зольность фитоматериала увеличивалась в направлении от ореха серого (9,5%) к ореху грецкому (9,7%) до ореха маньчжурского (10,0%).

Таким образом, при биогенной трансформации опада в почву попадает высокое содержание зольных элементов с ореха маньчжурского. Опавшая листовая масса ореха маньчжурского характеризуется меньшей массой органического вещества и более зольным остатком, чем у других видов рода Ореховых.

Содержание кальция в исследованных листовых образцах опада отмечалось наивысшее в фитоматериале ореха маньчжурского (9,0%) по сравнению с другими ореховыми.

Наибольшее содержание клетчатки также оказалось в фитопробах ореха маньчжурского (33%).

Гигроскопическая влажность материала листопада Ореховых составляет от 7,70 до 7,95%, менее влагонасыщенны опавшие листья орехов грецкого и серого, наиболее влаговосприимчивы опавшие листья ореха маньчжурского.

Вариабельность содержания азота в сухом листовом материале Ореховых очень низкая и изменяется в пределах 0,75–0,95%, она также наиболее высокая в опаде ореха маньчжурского.

Азот – один из важнейших элементов питания растений [2], и то, что он активно возвращается с опадом, связано с наличием в его составе самой представительной фракции трудногидролизуемых азотистых органических соединений «законсервированного типа», среди которых щелочногидролизуемая фракция подвижного азота составляет только 4–10% общего количества азотсодержащих соединений.

Влажность и биогенность фитопада ореховых насаждений ЦБС НАН Беларуси

Виды орехов	Гигроскопическая влажность	Клетчатка	Зольность	Кальций	Общий азот	Фенольный комплекс
	% от абсолютно-сухого вещества					мг/г
Орех грецкий	7,70	27,00	9,50	5,10	0,80	1,00
Орех маньчжурский	7,95	35,00	10,00	9,00	0,95	0,75
Орех серый	7,80	25,00	9,70	5,65	0,75	1,25

Оценка содержания фенолов, обладающих токсическим действием [2, 3], вызывающим аллелопатическую реакцию почв, ведущую к почвоутомлению и снижению плодородия почвы, очень актуальна для сохранения благоприятных почвенно-грунтовых условий и устойчивости к антропогенному прессингу.

Относительно предыдущих биогенных показателей – гигроскопической влажности, зольности, содержания клетчатки, кальция и общего азота – количественная оценка содержания фенолов выглядит несколько иначе. Если в предыдущих вариантах установленные максимальные величины биогенного состава были присущи фитомассе ореха маньчжурского, то по содержанию фенольных компонентов в опавших листьях ореха маньчжурского их меньше (0,75 мг/г), чем в листьях орехов грецкого и серого (1,00–1,25 мг/г).

У ореха маньчжурского листья содержат меньше токсичных веществ, а соответственно их опад меньше выделяет в окружающую среду токсичных ингредиентов.

По результатам корреляционного анализа повторностей аналитических проб выявлены: тесная положительная связь между содержанием в опаде кальция и клетчатки, более низкая корреляционная связь между величинами клетчатки и зольности, отрицательные корреляционные связи между зольным составом и фенольными комплексами:

$$R^2 = 0,90, r = 0,95;$$

$$R^2 = 0,45, r = 0,65;$$

$$R^2 = 0,40-0,60, r = -0,60-0,75.$$

Установленные корреляции свидетельствуют о сорбции золы в тканях клеточных стенок

Ореховых. Клетчатка, обладающая по своей природе высокими сорбционными свойствами, уменьшает ингибирующую функцию, а кальций способствует снижению кислотности среды. Полифенолы угнетают ростовые процессы, являясь природными ингибиторами [2, 3], их накопление в окружающей среде ведет к аллелопатическим явлениям и токсикозу почв.

Заключение. Полученные результаты и их анализ по корреляционным связям указывают на механизмы биогенной трансформации листового опада некоторых интродуцентов Ореховых сорбцией вторичных производных метаболизма, а конкретно полифенольных соединений, и вымыванием зольных элементов с их дальнейшей реутилизацией. Для исследованных видов рода Ореховых, интродуцированных в ЦБС НАН Беларуси, более вариabельными по биогенности опада оказались количественные параметры полифенольных комплексов, низкой степенью варьирования обладали результаты содержания азота, кальция, клетчатки, золы. По большинству биогенных параметров выделялась масса опада ореха маньчжурского, относительно богатая азотом, кальцием, клетчаткой и золой в сравнении с другими видами, однако менее обогащенная фенольными соединениями.

Литература

1. Биохимия сельскохозяйственных растений / под ред. В. П. Плешкова. – М., 1965. – 447 с.
2. Кучук, С. Н. Культура ореха маньчжурского в Центральном Ботаническом саду НАН Беларуси / С. Н. Кучук // Труды БГТУ. Сер. I, Лесн. хоз-во. – 2006. – Вып. XIV. – С. 168–170.
3. Практикум по физико-химическим методам в биологии. – М., 1981. – 240 с.