

УДК 633.822:547.913

## ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЭФИРНОГО МАСЛА В ЛИСТЬЯХ МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ (*MENTA PIPERITA* L.) И ЕГО КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ПОД ВЛИЯНИЕМ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ

С. С. ШАИН, Л. Б. ДМИТРИЕВ, А. И. ДЕНИСЕНКОВА, Г. К. КУЗНЕЦОВА,  
Л. Е. ИВАНОВА

(Кафедра органической химии)

Изучалось влияние стрессовых факторов (дефицит влаги, УФ-облучение, обработка растений водным раствором хлорхолинхлорида) на содержание эфирного масла в мяте перечной и его состав. Показано, что под влиянием этих факторов в растениях увеличивалось содержание эфирного масла, а в составе масла возрастало количество ментола.

Мята перечная — широко распространенное в промышленной культуре эфиромасличное растение. Масло мяты и получаемый из него ментол используют в медицинской и пищевой промышленности. Потребности в них пока не удовлетворяются за счет отечественного производства, поэтому большую актуальность имеют исследования, направленные на повышение продуктивности мяты перечной.

Известно, что содержание и состав эфирных масел (ЭМ) мяты могут изменяться в процессе роста и развития растений [2], а также под влиянием орошения [3], дефицита влаги [5], синтетических регуляторов роста [4] и т. д. Нами была поставлена задача разработать систему целенаправленного формирования максимальной продуктивности растений, последняя является функцией двух переменных величин: урожайности растений и содержания (концентрации) ЭМ в биомассе. При этом предусматривалось наличие двух последовательных этапов продукционного процесса. На первом этапе, в течение большей части продукционного цикла, растения были обеспечены необходимым и возможным в пределах опытов оптимальным факторами внешней среды (минеральное питание, влага, свет, температура). На втором этапе, когда практически сформировалась максимальная биомасса, индуцируя торможение роста растений в предуборочный период, усиливали процессы образования вторичных метаболитов в целях повышения концентрации ЭМ в растениях. Предполагалось, что при моделировании такой поэтапной технологии будет достигнута максимальная продуктивность растений, складывающаяся из наивысшей урожайности и наибольшей концентрации ЭМ и ментола в растительном сырье.

### Методика

Объектом исследований, которые проводили в условиях вегетационных опытов, служил элитный материал мяты перечной сорта Москвичка селекции ВИЛР. Емкость вегетационных сосудов составляла 6 кг. Повторность 4-кратная. В качестве субстрата использовали смесь дерново-подзолистой почвы с торфом в соотношении 1:1 при внесении  $N$ ,  $P_2O_5$  и  $K_2O$  из расчета 0,15 г д. в. на 1 кг почвенной смеси. Углекислый кальций вносили из расчета нейтрализации субстрата по гидролитической кислотности. Полив растений проводили по массе из расчета поддержания влажности почвы на уровне 80—90% ПВ. При максимальном накоплении биомассы (до наступления цветения) растения обрабатывали водным раствором хлорхолинхлорида

(XXX) в диапазоне концентраций 0,05—0,20%, или подвергали однократному воздействию УФ-облучения (лампа ПРК-4) при интенсивности светового потока 1 мВт/см<sup>2</sup>.с и экспозиции 15 мин, или снижали влажность почвы до 40% ПВ. Действие этих факторов перед уборкой сравнивали с контролем — растения в течение всей вегетации находились в условиях, которые были оптимальными для роста и накопления биомассы. В период проведения опытов определяли интенсивность фотосинтеза на инфракрасном газоанализаторе ГОИ-4А, интенсивность дыхания — на том же приборе и методом Варбурга, линейный апикальный рост — на ауксонометрах по В. С. Шелухе, содержание хлорофиллов *a* и *b* и их сумму — по Н. А.

Продуктивность растений на 10-е сутки после индукции задержки их роста

Вариант опыта	Интенсивность роста, мм/сут		Сухая масса, г		Содержание ЭМ, % к абсолютному сухому веществу
	начало опыта	конец опыта	листья	стебли	
Контроль	60,3	70,0	22,0	29,0	1,83
Дефицит влаги	41,0	40,0	22,0	27,0	2,14
УФ-стресс	47,5	40,0	22,0	31,0	1,24
XXX, 0,20 %	25,7	39,0	22,0	27,0	1,58
НСР <sub>05</sub>					0,27

Годневу. При уборке растений устанавливали их сырую и сухую массу, массу листьев и стеблей. Чтобы обеспечить большую стабильность и однородность физиолого-биохимических показателей, для проведения всех видов анализов использовали листья растений. Экспериментальные данные обрабатывали с применением методов вариационной статистики. Содержание эфирного масла определяли методом водной дистилляции по Гинзбург, качество и количество основных компонентов масла — газохроматографическим методом на хроматографе «Биохром-1» с помощью стек-

лянной капиллярной колонки длиной 50 м и диаметром 0,31 мм с неподвижной фазой «Карбовакс 40М» при добавке KF (методика ИНЭОС). Детектор — микро-пламенно-ионизационный. Начальная температура колонки составляла 60 °С (95 °С), конечная — 200 °С при скорости программирования 4 °С/мин. Температура детектора и инжектора — 220 °С. Скорость газа-носителя (He) — 1,5 мл/мин.

Состав масла устанавливали методом хромато-масс-спектрометрии по методике, разработанной нами ранее [1].

### Результаты

В начале и в конце рекогносцировочного опыта 1985 г. (табл. 1) во всех вариантах по сравнению с контролем линейный апикальный рост растений был замедлен, что, однако, не оказывало существенного влияния на урожайность надземной массы.

Содержание ЭМ в листьях по сравнению с контролем достоверно повышалось лишь при водном дефиците. При обработке растений XXX (концентрация 0,20 %) и УФ-облучении этот показатель оказался ниже, чем в контроле. Состав ЭМ в этом опыте не определяли.

Ингибирующие рост факторы оказывали влияние и на основные физиологические параметры листьев мяты (табл. 2). В начале опыта интенсивность фотосинтеза снижалась под влиянием всех испытанных ингибирующих рост факторов. В конце опыта интенсивность фотосинтеза и дыхания у растений на фоне водного дефицита не отличалась от контроля. В остальных вариантах опыта интенсивность дыхания листьев была более высокой в течение всего опытного периода.

Сохранение оптимальных величин этих показателей при дефиците влаги, по-видимому, способствовало активизации накопления ЭМ в листьях (табл. 1).

Таблица 2

Физиологические показатели листьев на 10-е сутки индукции задержки роста растений

Вариант опыта	Начало опыта			Конец опыта		
	интенсивность фотосинтеза, мг CO <sub>2</sub> /дм <sup>2</sup> . ч	интенсивность дыхания, мкл CO <sub>2</sub> /1 г сырой массы	содержание хлорофилла а + в, мг/1 г сухой массы	интенсивность фотосинтеза, мг CO <sub>2</sub> /дм <sup>2</sup> . ч	интенсивность дыхания, мкл CO <sub>2</sub> /1 г сырой массы	содержание хлорофилла а + в, мг/1 г сухой массы
Контроль	6,9	364	13,6	5,0	627	5,8
Дефицит влаги	4,7	524	13,5	5,2	625	4,5
УФ-стресс	3,5	570	15,8	4,2	753	7,9
XXX, 0,20 %	4,6	581	7,0	4,6	655	8,3

Продуктивность растений после индукции задержки роста

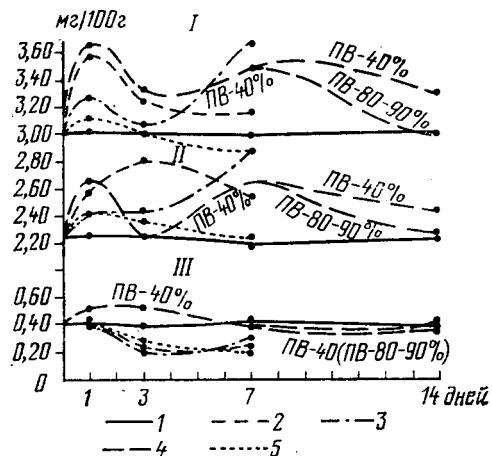
Вариант опыта	Период от начала опыта, дни								
	1-й			3-й			7-й		
	наземная масса, г сухого вещества	содержание ЭМ, %	сбор ЭМ, мг/вегетационный сосуд	наземная масса, г сухого вещества	содержание ЭМ, %	сбор ЭМ, мг/вегетационный сосуд	наземная масса, г сухого вещества	содержание ЭМ, %	сбор ЭМ, мг/вегетационный сосуд
Контроль	32	3,03	575,7	36	3,02	634,2	38	2,99	627,9
Дефицит влаги	27	3,67	568,8	32	3,34	601,2	31	3,50	612,5
XXX, %:									
0,05	36	3,12	592,8	38	3,02	694,6	46	2,87	746,2
0,10	35	3,59	692,1	37	3,26	652,0	45	3,17	729,1
0,15	34	3,27	588,6	40	3,06	642,6	44	3,68	883,2
НСР <sub>05</sub>	2	0,20		2	0,20		6	0,20	

В опыте 1986 г. ретардант ХХХ был испытан в диапазоне концентраций 0,05—0,15 %. После воздействия ингибирующими рост стрессовыми факторами растения убирали через 7 дней. Наблюдения и учет продуктивности растений проводили на 1, 3 и 7-й день.

Интенсивность линейного роста растений в контроле колебалась в пределах 18—25 мм в сутки. Ингибирующее рост действие ХХХ проявлялось постепенно, к концу опыта интенсивность роста снижалась до 16,4—22,3 мм в сутки в зависимости от дозы ретарданта. Ростовая функция наиболее резко тормозилась на фоне водного дефицита в течение всего периода опыта (суточный прирост составлял 4,0—11,5 мм). Под влиянием водного дефицита и обработки растений ХХХ содержание в листьях ЭМ существенно увеличивалось уже в 1-й день наблюдений (табл. 3). Наивысший сбор ЭМ зарегистрирован в конце опыта на фоне предуборочной обработки растений ХХХ в концентрации 0,15 %. Продуктивность растений в этом случае увеличилась на 40 % по сравнению с контролем.

Под влиянием ингибирующих рост стрессовых факторов изменялось и содержание отдельных компонентов в ЭМ (табл. 4). Так, содержание в масле 1-ментола в контроле варьировало в пределах 73,0—75,6 %, а в отдельных вариантах опыта оно возрастало до 80,5—86,5 % (табл. 4). На фоне предуборочных обработок растений ХХХ (во всех испытанных концентрациях) количество 1-ментола в ЭМ повысилось на 5—11 %.

Таким образом, даже слабое торможение ростовых процессов (концентрация ретарданта 0,05 %) индуцировало полезные изменения компонентного состава ЭМ. Аналогично изменялся состав масла и при использовании более высоких концентраций ретарданта (0,10 и 0,15 %) с той лишь разницей, что на их фоне значительно повышалось и общее содержание ЭМ в листьях. Эти изменения наблюдались уже на следующий день после обработки растений ХХХ, к концу опыта они усиливались.



Изменение содержания ЭМ (I) и его основных компонентов — 1-ментола (II) и ментона (III) — под влиянием ингибирующих рост факторов.

1 — контроль; 2 — влажность почвы 40 % ПВ; 3 — обработка растений раствором ХХХ в концентрации 0,15 %; 4 — 0,10; 5 — 0,05 %.

Изменение состава ЭМ мяты под влиянием ингибирующих рост факторов (%)

Соединение	Период от начала опыта, дни												НСР <sub>05</sub>			
	1-й				3-й				7-й							
	контроль	водный дефицит		XXX, %		контроль	водный дефицит		XXX, %		контроль	водный дефицит		XXX, %		
		0,05	0,10	0,15	0,05		0,10	0,15	0,05	0,10		0,15		0,05	0,10	0,15
α-Пинен	0,18	0,19	0,20	0,12	0,18	0,18	0,18	0,09	0,05	0,09	0,19	0,20	0,08	0,04	0,10	0,02
Мирцен	0,06	0,03	0,05	0,03	0,07	0,04	0,07	0,04	0,02	0,02	0,08	—	0,03	0,01	0,02	0,02
Фелландрен	0,10	0,07	0,08	0,08	0,14	0,13	0,14	0,06	0,04	0,05	0,15	0,10	0,07	0,04	0,06	0,03
Лимонен	0,33	0,19	0,25	0,25	0,36	0,37	0,36	0,11	0,08	0,10	0,38	0,30	0,08	0,07	0,15	0,05
1,8-Цинеол	0,11	0,07	0,09	0,10	0,12	0,15	0,12	0,07	0,06	0,05	0,12	0,18	0,08	0,07	0,05	0,02
β-Терпинен	0,05	0,04	0,04	0,04	0,06	0,06	0,06	0,05	0,03	0,02	0,06	0,02	0,05	0,04	0,06	0,02
п-Цимол	0,01	—	0,03	0,02	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02
Октанол-3	—	0,02	0,03	0,02	—	0,04	—	0,01	0,02	0,03	—	0,03	0,04	0,02	0,03	0,02
Ментон	14,5	14,1	13,4	12,5	14,2	12,5	12,5	9,5	5,8	7,1	14,8	11,5	8,5	8,1	8,7	2,3
изо-Ментон	3,2	3,4	3,2	3,4	3,6	3,3	3,3	3,0	2,5	3,0	3,4	3,7	3,5	3,0	3,6	0,4
Ментилацетат	0,16	0,24	0,19	—	0,19	0,18	—	0,26	—	0,04	0,20	—	0,25	0,38	—	0,05
Неоментол	1,95	1,30	1,70	1,30	2,00	2,00	2,00	2,40	1,40	2,30	2,40	1,25	2,30	2,30	2,40	0,45
изо-Ментол	1,45	2,60	1,45	1,50	1,40	1,40	1,40	1,60	1,20	1,30	1,90	2,55	1,70	3,20	0,80	0,40
1-Ментол	74,5	72,5	72,0	74,0	75,5	67,5	75,5	78,5	86,5	79,5	73,0	76,0	78,5	80,5	78,5	2,4
Состав не установлен	0,80	0,60	0,85	0,60	0,95	1,05	0,95	0,95	0,60	0,65	0,95	0,60	0,95	0,70	0,90	0,17
Пиперитон	1,05	0,90	0,85	1,20	0,45	1,05	1,05	1,00	0,30	0,65	0,95	1,15	1,20	0,40	1,40	0,20
Состав не установлен	0,16	0,25	0,22	0,10	0,15	0,22	0,05	0,35	0,05	0,55	0,18	0,03	0,45	0,05	0,03	0,05

Продуктивность мяты перечной при чередовании оптимального и стрессового режимов влагообеспеченности

Вариант опыта	Содержание ЭМ, %	Количество 1-ментола в ЭМ, %	Наземная масса, г сухого вещества	Сбор ЭМ, мг/сосуд	Интенсивность			Содержание хлорофилла а+б, мг на 1 г сухой массы
					роста растений, мм/сут	фотосинтеза, мг CO <sub>2</sub> /дм <sup>2</sup> ·ч	дыхания, мкг CO <sub>2</sub> /1 г сырой массы	
1-й — ПВ 90 % (конт-роль)	3,01	76,5	62,0	797,6	21,3	4,0	743	14,8
2-й — ПВ 90—40—40 %	3,34	73,5	49,0	818,3	4,5	3,4	643	23,4
3-й — ПВ 90—40—90%	3,01	77,2	61,5	812,7	39,7	2,8	763	15,5
НСР <sub>05</sub>	0,20	2,5	7,0					

Итак, под влиянием стрессовых факторов характер биосинтеза ЭМ меняется. В условиях водного дефицита содержание ЭМ на первом этапе в растениях резко возрастало (рисунок) за счет повышения интенсивности биосинтеза всех компонентов ЭМ, при этом состав ЭМ практически не менялся. В последующем отмечено ингибирование синтеза 1-ментола по сравнению с синтезом ментона и других компонентов. Однако в дальнейшем интенсивность биосинтеза 1-ментола в отличие от синтеза других компонентов ЭМ опять постепенно повышалась.

Ретардант на первом этапе в основном действовал на интенсивность биосинтеза 1-ментола. Постепенное повышение концентрации ХХХ до 0,10 % вызывало стимулирующую синтез этого соединения, максимальный синтез отмечен на 3—4-й день. Более высокие концентрации ретарданта (0,15 %, табл. 3), вероятно, оказывали отрицательное влияние на один из этапов биосинтеза 1-ментола. Можно предположить, что снижение концентрации ХХХ за счет его деградации в растениях определяет постепенное увеличение интенсивности биосинтеза 1-ментола в более поздние сроки при первоначальной концентрации ХХХ 0,15 %. Это предположение косвенно подтверждается тем, что к концу эксперимента при низких первоначальных концентрациях ХХХ наблюдаются постепенная нормализация биохимических процессов и восстановление первоначального состава ЭМ.

В отличие от стрессового действия водного дефицита ХХХ приводит к устойчивому ингибированию биосинтеза ментона на 3-й день эксперимента, при этом его содержание в ЭМ снижается почти в 2 раза.

Таким образом, при водном дефиците (табл. 4) содержание ЭМ в листьях мяты увеличивается в основном за счет почти 2-кратного повышения доли неоментола, изо-ментола и ментона, т. е. малоценных компонентов. Следовательно, для увеличения содержания ЭМ в урожае и повышения качества последнего более перспективно использование в предуборочный период ретарданта ХХХ в качестве ингибирующего рост стрессора.

При обработке растений ХХХ содержание в ЭМ таких терпеноидов, как лимонен, α-пинен, мирцен, 1,8-цинеол, к концу опыта снижалось до следовых количеств. Это можно объяснить блокированием биосинтеза перечисленных компонентов и последующим их испарением в атмосферу. На фоне водного дефицита такой закономерности в изменении содержания терпеновых углеводородов в ЭМ не установлено, что также свидетельствует о специфичности действия в предуборочный период стрессоров на компонентный состав ЭМ.

В опыте 1986 г. мы также выясняли, как будут изменяться содержание ЭМ в листьях мяты и его состав после снятия ингибирующих стрессовых воздействий, т. е. тогда, когда растения вновь оказываются в оптимальных для роста и накопления биомассы условиях. Методические и технические возможности позволили провести такой эксперимент лишь с регулированием водного режима растений. После выра-

щивания растений при водном дефиците в течение 7 дней им снова создавали оптимальный режим влагообеспеченности в последующие 7 дней.

При продолжавшемся водном дефиците в листьях растений сохранялось повышенное содержание ЭМ. В 3-м варианте опыта концентрация масла снижалась до уровня контроля (табл. 5).

Переход от водного дефицита к оптимальной влагообеспеченности сопровождался постепенным восстановлением первоначального состава ЭМ. При переводе растений со стрессового на оптимальный фон влагообеспеченности резко повышалась интенсивность роста и дыхания, снижалось содержание хлорофиллов по сравнению с соответствующими показателями во 2-м и 4-м вариантах. К концу опыта растения в 3-м варианте практически не отличались от контроля по накоплению надземной биомассы и сбору ЭМ. При переходе от дефицита влаги к оптимальному уровню влагообеспеченности темпы накопления ЭМ уступали интенсивности увеличения надземной биомассы, т. е. его концентрация на единицу сухого вещества снижалась по мере увеличения темпов нарастания надземной биомассы растений.

### Выводы

1. Действие стрессовых факторов на развитие мяты перечной в предуборочный период вызывало повышение содержания в листьях ЭМ и изменение его компонентного состава.

2. Установлена специфичность действия на растения различных стрессовых факторов. Под влиянием предуборочной обработки растений ХХХ увеличилась концентрация ментола и адекватно уменьшилось содержание ментона. Одновременно ингибировался биосинтез терпеновых углеводов: лимонена,  $\alpha$ -пинена, мирцена и 1,8-цинеола.

В предуборочный период при водном дефиците в листьях растений увеличивалась концентрация ЭМ за счет малоценных в практическом отношении компонентов: нео-ментола, изо-ментона и изо-метола при некотором повышении содержания ментола и практически стабильной концентрации в нем ментона.

3. Повышение содержания ЭМ в листьях на фоне действия стрессовых факторов коррелировало с уменьшением интенсивности роста и фотосинтеза, а также с увеличением интенсивности дыхания. Излишние ассимилянты могут накапливаться, депонироваться и шунтироваться на активацию процессов вторичного метаболизма.

4. Снятие водного дефицита как ингибирующего рост фактора приводило к уменьшению концентрации ЭМ в биомассе.

5. Целенаправленное применение ХХХ в предуборочный период может способствовать получению максимальной продуктивности мяты перечной (наивысшей урожайности и наибольшего содержания эфирного масла и его ценных компонентов в урожае).

### ЛИТЕРАТУРА

1. Замуреенко В. А., Ключев А. Н., Дмитриев Л. Б., Грандберг И. И. Изучение состава эфирного масла мяты перечной (*Mentha piperita* L.) с использованием хромато-масс-спектрометрии. — Изв. ТСХА, 1980, вып. 1, с. 169—172. — 2. Та-насиенко Ф. С. Эфирные масла. Содержание и состав в растениях. — Киев: Наукова думка, 1985, с. 30—35. — 3. Clazk R. J., Menary R. C. — Aust. J. Agric. Res. 1980, vol. 31, p. 489—498. — 4. El-Keltawi N. E., Croteau R. — Phytochemistry, 1986, vol. 25, p. 1285—1288. — 5. Gershenson I. Phytochemi Adopt. Stress. Proc. Annu. Symp. Phytochem. Soc. N. Amer., Tucson, Ariz., 5—8 July, 1983. N. Y., London, 1984, p. 291—292.

Статья поступила 8 июля 1988 г.

### SUMMARY

The effect of stress factors (lack of moisture, ultraviolet irradiation, treating plants with water solution of chlorocholinechloride) on the amount and composition of essential oil in peppermint was studied. It is shown that under the effect of these factors the content of essential oil in plants increases, and the amount of menthol in the oil gets higher.