

Сравнительный анализ диких и культурных видов чины (*Lathyrus* L.) по содержанию сахаров, многоатомных спиртов, свободных жирных кислот и фитостеролов

А.Е. Соловьева¹, Т.В. Шеленга¹, А.Л. Шаварда^{1, 2, 3}, М.О. Бурляева¹ ✉

¹ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

³ Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

✉ e-mail: m.burlyaeva@vir.nw.ru

Аннотация. В условиях изменения климата увеличивается потребность в устойчивых к абиотическим и биотическим стрессам сельскохозяйственных культурах. Виды чины характеризуются высокой питательной ценностью зеленой массы. Чина посевная – одна из наиболее устойчивых к засухе, заболачиванию, холоду, засолению, болезням и вредителям бобовых культур, выращивается при минимальных затратах. Создание сортов *Lathyrus* L. с улучшенным составом питательных веществ позволит получать качественные корма в районах с крайне неустойчивыми погодными условиями. В связи с этим нами исследованы закономерности изменчивости показателей углеводного комплекса (сахаров, их лактонных и метильных форм), многоатомных спиртов (в том числе фенолсодержащих), фитостеролов, свободных жирных кислот и ацилглицеролов в зеленой массе 32 образцов *Lathyrus sativus* L., *L. tuberosus* L., *L. sylvestris* L., *L. vernus* (L.) Bernh., *L. latifolius* L., *L. linifolius* (Reichard) Bassler. из коллекции ВИР, репродуцированных в Ленинградской области в контрастных условиях 2012 и 2013 гг. Содержание идентифицированных соединений варьировало в зависимости от генотипа, вида и метеорологических условий. Высокие температуры и большое количество осадков 2013 г. способствовали накоплению моносахаридов, более холодные и сухие условия 2012 г. – накоплению олигосахаридов, большинства многоатомных спиртов и свободных жирных кислот. Вид, возделываемый в культуре (*L. sativus*), отличался высоким содержанием сахаров, дикие виды – свободных жирных кислот (*L. latifolius*), ононитола, мио-инозитола и глицерол-3-фосфата (*L. linifolius*), МАГ и метилпентофуранозида (*L. vernus*). По результатам изучения большинство исследованных образцов перспективно для селекции новых высокопитательных и устойчивых к стрессам кормовых сортов *Lathyrus*.

Ключевые слова: *Lathyrus* L.; дикие виды; сорта; зеленая масса; газовая хроматография; генетические ресурсы; полиморфизм признаков.

Для цитирования: Соловьева А.Е., Шеленга Т.В., Шаварда А.Л., Бурляева М.О. Сравнительный анализ диких и культурных видов чины (*Lathyrus* L.) по содержанию сахаров, многоатомных спиртов, свободных жирных кислот и фитостеролов. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2020;24(7):730-737. DOI 10.18699/VJ20.667

Comparative analysis of wild and cultivated *Lathyrus* L. species to assess their content of sugars, polyols, free fatty acids, and phytosterols

А.Е. Solovyeva¹, Т.В. Shelenga¹, А.Л. Shavarda^{1, 2, 3}, М.О. Burlyaeva¹ ✉

¹ Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

² St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

³ V.L. Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

✉ e-mail: m.burlyaeva@vir.nw.ru

Abstract. Under the condition of climate change, the need for crops resistant to abiotic and biotic stresses is increasing. *Lathyrus* spp. are characterized by a high nutritional value of their green biomass. The grass pea is one of the most resistant to drought, waterlogging, cold, salinity, diseases and pests among cultivated legumes, and it is grown at minimal cost. The creation of new *Lathyrus* L. sorts with an improved nutrient composition of nutrients will allow to obtain high-quality feed in areas with extremely unstable weather conditions. In this connection, we studied the patterns of variability in the parameters of the carbohydrate complex (sugars, their lactone and methyl forms), polyols (including phenol-containing alcohols), phytosterols, free fatty acids (FFA) and acylglycerols in the green mass of 32 samples of *Lathyrus sativus* L., *L. tuberosus* L., *L. sylvestris* L., *L. vernus* (L.) Bernh., *L. latifolius* L., *L. linifolius* (Reichard) Bassler. from the VIR collection, reproduced in the Leningrad region in contrasting conditions 2012, 2013. The content of identified compounds varied depending on the genotype, species, and weather conditions. High temperatures and high level of precipitation in 2013 contributed to the accumulation of monosaccharides, in more colder and drier conditions in 2012 – oligosaccharides, most of polyols and FFA. The cultivated species (*L. sativus*) was distinguished by its high sugar content, and the wild species as follows: *L. latifolius* by

FFA; *L. linifolius* by ononitol, myo-inositol, and glycerol 3-phosphate; *L. vernus* by MAG and methylpentofuranoside. The species cultivated in culture (*L. sativus*) was distinguished by a high sugar content, wild species: *L. latifolius* – by FFA, *L. linifolius* – ononitol, myo-inositol and glycerol-3-phosphate, *L. vernus* – MAG and methylpentofuranoside. According to our results, the studied samples are promising for the selection of *Lathyrus* varieties with high nutrition quality and stress-resistant. Key words: *Lathyrus* L.; wild species; varieties; green mass; gas chromatography; polymorphism of characters.

For citation: Solovyeva A.E., Shelenga T.V., Shavarda A.L., Burlyayeva M.O. Comparative analysis of wild and cultivated *Lathyrus* L. species to assess their content of sugars, polyols, free fatty acids, and phytosterols. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(7):730-737. DOI 10.18699/VJ20.667

Введение

В условиях изменения климата увеличивается число регионов с крайне нестабильными погодными условиями, что усиливает потребность в устойчивых к стрессам сельскохозяйственных культурах, выращиваемых для питания и на корм. Многие виды рода *Lathyrus* L. используются как пищевые, кормовые и лекарственные растения. Большинство дикорастущих видов чины применяется в качестве пастбищных и кормовых культур. Наиболее известна чина посевная (*Lathyrus sativus* L.), имеющая тысячелетнюю историю возделывания и культивируемая на всех континентах. Эта бобовая культура считается одной из наиболее устойчивых к засухе, затоплению и холоду (Campbell, 1997). Выращивается на различных типах почв, в том числе засоленных, и дает урожай в условиях, когда другие культуры погибают, поэтому считается «пищей для выживания» (Sarkar et al., 2019). Вид устойчив к болезням (мучнистой росе, ржавчине и др.) и вредителям (Sarkar et al., 2019), урожайность семян чины посевной достигает 2.9 т/га, зеленой массы – 5.2 т/га.

Семена и зеленая масса чины посевной отличаются высокой питательной ценностью. В зерне в зависимости от условий произрастания содержится от 18 до 34 % белка (Rizvi et al., 2016; Бурляева и др., 2018; Донской и др., 2019), в зеленой массе – от 10 до 27 % (Бурляева и др., 2015). Семена *L. sativus* и *L. cicera* L. характеризуются высокой концентрацией незаменимых аминокислот (63–64 %) и полиненасыщенных жирных кислот (66.9 и 58.6 % соответственно), преимущественно линолевой (Grela et al., 2012). Сено из чины по питательности не уступает люцерне (Poland et al., 2003). Содержание органических кислот в зеленой массе чины колеблется от 140.0 до 2140.0 мг/100 г, свободных аминокислот – от 11.8 до 610.0, соединений вторичного метаболизма – от 4.4 до 224.6 мг/100 г (Соловьева и др., 2019).

В России по сравнению с другими странами виды чины занимают незначительное место в растениеводстве. Селекционная работа ведется ограниченным числом учреждений, что отрицательно сказывается на использовании чины в сельскохозяйственном производстве.

Наши предыдущие исследования зеленой массы диких и культурных видов чины выявили широкий спектр соединений, входящих в ее состав (органические кислоты, свободные аминокислоты, вещества вторичного метаболизма). Были выделены образцы, перспективные для создания высокопитательных, устойчивых и лекарственных сортов *Lathyrus* (Соловьева и др., 2019).

В данной работе мы продолжили изучение метаболомных профилей зеленой массы чины по содержанию сахаров, свободных жирных кислот (св ЖК), многоатомных спиртов и ацилглицеролов. Задачей исследования

стала оценка меж- и внутривидового полиморфизма биохимических признаков у видов рода *Lathyrus* и влияния погодных условий на их изменчивость. Для ее решения был использован распространенный в настоящее время профайлинговый анализ (Steinhauser, Kopka, 2007), относящийся к группе так называемых метаболомных методик, которые, помимо получения данных о содержании отдельных метаболитов в объекте, позволяют оценивать состояние исследуемого объекта (Worley, Powers, 2012; Hong et al., 2016). Таким образом, нашей целью было изучение различий в состоянии метаболитных сетей образцов видов *Lathyrus* в контексте их таксономической характеристики и погодных условий.

Материалы и методы

В опыт были включены 32 образца шести видов чины из коллекции ВИР: чина посевная (*L. sativus*), лесная (*L. sylvestris* L.), весенняя (*L. vernus* (L.) Bernh.), льнолистная (*L. linifolius* (Reichard) Bassler), широколистная (*L. latifolius* L.) и клубненосная (*L. tuberosus* L.), выращенные на полях Пушкинских опытных лабораторий Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР) в 2012 и 2013 гг. по методикам, принятым в ВИР (Вишнякова и др., 2010). Метеорологические условия во время вегетации растений были контрастными. В 2012 г. сумма активных температур равнялась 1885.0 °С, количество осадков – 340.7 мм, в 2013 г. наблюдалось повышение суммы активных температур до 2474.3 °С и осадков до 646.4 мм.

Растения были собраны в стадии начала налива бобов. Анализировалась свежая зеленая масса пяти растений каждого образца (листья, соцветия, бобы в фазе молочной спелости, стебли). ГХ-МС профайлинг реализован по протоколу анализа триметилсилильных производных, разработанному в Ботаническом институте им. В.Л. Комарова (БИН) РАН в процессе выполнения планового задания по теме АААА-А18-118032390136-5 «Оценка изменений корреляционной структуры метаболитных сетей в процессе роста и развития грибов и растений с позиций системной биологии», и адаптированному к использованию на Agilent 6850-MSD 5975 в РЦ «Развитие молекулярных и клеточных технологий» Научного парка Санкт-Петербургского университета (СПбГУ) (Puzanskiy et al., 2018).

Растительный материал исследовали методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией (ГХ-МС). Экстрагировали этанолом, затем выпаривали досуха на установке CentriVap Concentrator фирмы Labconco (США). Сухой остаток растворяли в пиридине, содержащем 1000 ppm трикозана, используемого в качестве внутреннего стандарта, затем вводили 20 мкл BSTFA ([N,O-бис-(триметилсилил)трифторацетамид]) (Supelco, США). Для

обеспечения достаточной полноты протекания реакции силилирования, вials выдерживали в течение 15 мин при температуре 100 °С в специальном термоблоке. Образцы исследовали на хромато-масс-спектрометре фирмы Agilent 6850 с масс-селективным детектором Agilent 5975 D (США). Хроматографическое разделение выполняли на капиллярной колонке Agilent HP-5MS длиной 30 м, внутренним диаметром 0.25 мм и толщиной пленки неподвижной фазы 0.25 мкм в режиме линейного программирования температуры от 70 до 325 °С со скоростью 6°/мин (50 мин), газ-носитель – гелий. Анализ проводился в режиме постоянства скорости газового потока через колонку (1 мл/мин). Температура испарителя 300 °С, деление потока при вводе проб 1:20. Сканирование масс-спектров от 50 до 1050 а. е. м. со скоростью 2 скана/с. Хроматограммы образцов регистрировали по полному ионному току.

Полученные результаты обрабатывали с помощью программ UniChrom, AMDIS и библиотек масс-спектров NIST 2010, а также in-house библиотек Научного парка СПбГУ и БИН РАН.

Расчет количества ТМС (триметилсилил) производных идентифицированных соединений проводили методом внутренней стандартизации по трикозану с помощью программы UniChrom. При примененном нами полуколичественном анализе (semiquantitation) коэффициенты чувствительности детектора к отдельным соединениям не учитываются (Worley, Powers, 2012). Данные анализа представлены в условных единицах (усл. ед.) (Ситкин и др., 2013).

Статистическую обработку данных проводили в программах Statistica7 и Excel 7.0 for Windows с помощью факторного анализа по методу главных компонент и однофакторного дисперсионного анализа. Достоверность воздействия условий среды на проявление биохимических признаков оценивали при помощи критерия Фишера (LSD-test), долю (силу) влияния фактора – η^2 (коэффициент внутриклассовой корреляции по Фишеру) вычисляли по формуле (Ивантер, Коросов, 2003):

$$\eta^2 = \frac{SS_{\text{фактора}}}{SS_{\text{общая}}} \times 100 \%,$$

где η^2 – доля влияния фактора, %; $SS_{\text{фактора}}$ – факторная сумма квадратов отклонений; $SS_{\text{общая}}$ – общая сумма квадратов отклонений.

Результаты

В результате изучения ГХ-МС профайлинга зеленой массы видов *Lathyrus* L. выявлено около 300 компонентов. Органические кислоты, свободные аминокислоты и фенолсодержащие соединения рассмотрены нами ранее (Соловьева и др., 2019). В настоящей статье приведены данные сравнительного анализа содержания в зеленой массе чины более 60 веществ: сахаров, многоатомных спиртов, фитостеролов, св ЖК. Содержание идентифицированных соединений представлено в усл. ед. (см. таблицу, Прил. 1)¹.

Углеводный состав зеленой массы чины состоял из моно- и олигосахаров. Моносахара были представлены

Сравнительный анализ содержания сахаров, многоатомных спиртов и св ЖК в зеленой массе некоторых видов *Lathyrus* L. (в усл. ед.)

Вид	Сахара	Многоатомные спирты	св ЖК
<i>L. sativus</i> L.	1808 ± 124*	487 ± 66	162 ± 25
	423–4470**	77–3184	10–732
<i>L. sylvestris</i> L.	825 ± 101	340 ± 73	130 ± 42
	592–1162	244–630	40–288
<i>L. vernus</i> (L.) Bernh.	304 ± 204	1041 ± 22	50 ± 7
	40–569	1019–1062	43–56
<i>L. linifolius</i> (Reichard) Bassler	327 ± 5	2343 ± 247	114 ± 3
	322–331	1895–2791	110–117
<i>L. latifolius</i> L.	488 ± 10	360 ± 31	345 ± 81
	478–4990	329–391	264–427
<i>L. tuberosus</i> L.	144 ± 25	66 ± 17	86 ± 34
	119–169	49–82	52–120

* Среднее арифметическое ± стандартная ошибка среднего арифметического; ** вариабельность (минимум–максимум).

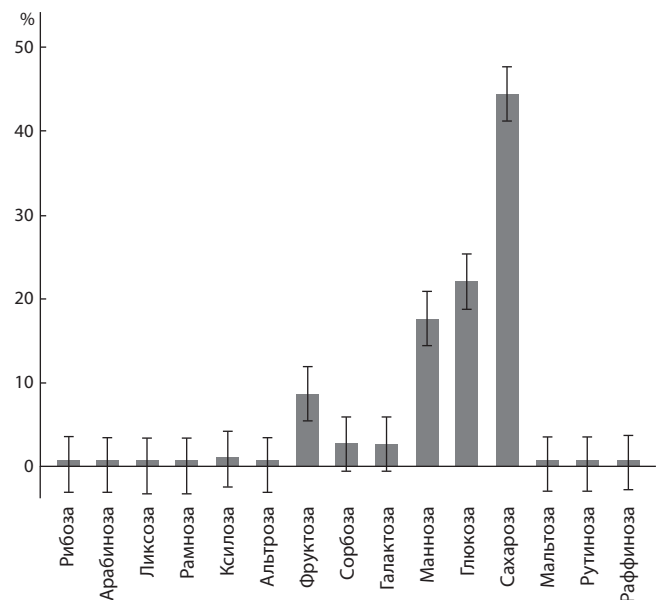


Рис. 1. Компонентный состав моносахаров и олигосахаров в процентах от общего содержания сахаров в зеленой массе видов *Lathyrus* spp. (средние значения, усл. ед.; стандартная погрешность).

пентозами (рибозой, арабинозой, ликсозой, ксилозой) и гексозами (фруктозой, глюкозой, сорбозой, галактозой, маннозой, рамнозой, альтрозой). Олигосахара включали дисахариды (сахарозу, мальтозу, рутинозу) и трисахарид (раффинозу). Основными сахарами в группе гексоз были фруктоза, глюкоза и манноза, в группе пентоз – ксилоза, в группе дисахаридов – сахароза (рис. 1). Кроме того, идентифицированы метаболически активные формы сахаров – лактонные (глюкоза-1,4-лактон), фосфатные (фруктоза-6-фосфат, глюкоза-1-фосфат) и метильные (метилпентафуранозид, метилглюкофуранозид).

¹ Приложения 1–3 см. по адресу: <http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/pict-2020-24/appx11.pdf>

Относительное содержание сахаров варьировало по годам (рис. 2) и в зависимости от генотипа. Большая часть сахаров относилась к моносахарам (67 % от суммы сахаров), которые были представлены главным образом гексозами (66 % от суммы моносахаров). Пентозы составляли чуть более 1 %, олигосахара – 32.6 %, в том числе дисахариды – 32.3 %, трисахариды – 0.3 %. Из дисахаридов преобладала сахароза (31.9 %).

Среднее значение сахаров в 2012 г. составило 1442 усл. ед. (диапазон от 40 до 4470 усл. ед.). Основная часть сахаров относилась к дисахаридам – 903 усл. ед. (от 0 до 3983). Средняя сумма моносахаров равнялась 538 усл. ед. (от 40 до 2085). Они были представлены преимущественно гексозами – 530 усл. ед. (от 29 до 2082). Количество пентоз составило 8 усл. ед. (от 0 до 24). Из трисахаридов выявлена раффиноза – средний показатель 1 усл. ед. (от 0 до 14). Сумма олигосахаров в среднем достигала 904 усл. ед. (от 0 до 3984).

Самое высокое содержание сахаров в 2012 г. определено у образцов *L. sativus* (до 4470 усл. ед.) и *L. sylvestris* (до 1162). Остальные виды чины накапливали менее 600 усл. ед. сахаров. Самые низкие значения наблюдались у образцов *L. tuberosus* (144 усл. ед.).

В 2013 г. суммарное содержание сахаров, в том числе моносахаров (гексоз и пентоз), в среднем увеличилось до 1830 и 1278 усл. ед. соответственно, а сахарозы снизилось до 551 усл. ед. По сравнению с 2012 г. изменились границы варьирования суммы сахаров (от 144 до 2511 усл. ед.), моносахаров (от 63 до 1842, в том числе гексоз – от 63 до 1751) и олигосахаров (от 273 до 1060 усл. ед.). Основную часть сахаров в 2013 г. составляли моносахара (гексозы). Средние значения суммы олигосахаров в 2013 г. уменьшились до 532 усл. ед., раффинозы – увеличились до 11 усл. ед. Диапазон изменчивости пентоз и раффинозы (0.3–64 и 0–40 усл. ед. соответственно) в 2013 г. стал шире по сравнению с предыдущим годом.

Высоким содержанием сахаров (более 2831 усл. ед.) за весь период исследования отличались образцы *L. sativus*.

Многоатомные спирты и фитостеролы. Большая часть идентифицированных многоатомных спиртов относилась к шестиатомным полиолам (сорбитол, дульцитол, маннитол, инозитол), их сумма в среднем составила 476 усл. ед. (см. Прил. 1). Они были представлены в основном инозитолом, его изомерами и производными (миоинозитолом, хиро-инозитолом, метил-инозитолом, ононитолом, галактинолом), их сумма составила 413 усл. ед. Кроме вышперечисленных, идентифицированы глицерол, эритритол, триетол, ксилитол, арабинитол, фитол. Также выявлены фитостеролы (кампестерол, стигмастерол, β-ситостерол, изофукостерол, таракастерол) и фенолсодержащие спирты (кониферол, α-токоферол, кемпферол, пирогаллол), их сумма равнялась 9 и 3 усл. ед. соответственно. В группе фитостеролов преобладал β-ситостерол (8 усл. ед.). Помимо того, идентифицированы фосфатные формы глицерола, инозитола и продукты обмена глицерофосфолипидов (глицерол-3-фосфат, миоинозитол-2-фосфат). Фенолсодержащие спирты были рассмотрены нами ранее (Соловьева и др., 2019).

Содержание полиолов значительно менялось по годам исследования (см. рис. 2). В 2012 г. их среднее значение

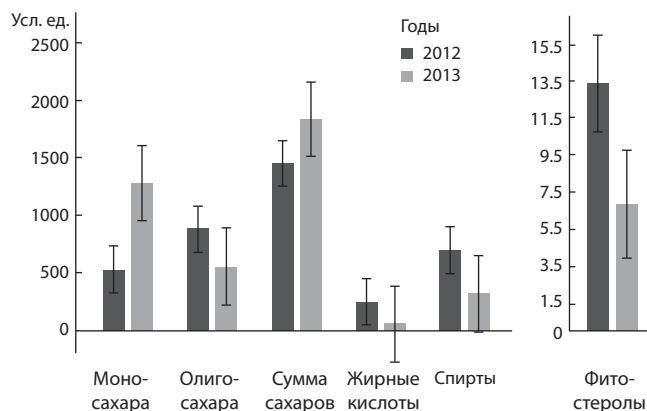


Рис. 2. Средние значения моносахаров, олигосахаров, суммы сахаров, свободных жирных кислот, многоатомных спиртов и фитостеролов в зеленой массе чины в 2012–2013 гг. (средние значения, усл. ед.; стандартная погрешность).

равнялось 744 усл. ед., границы варьирования – от 171 до 3184. В 2013 г. количество полиолов снизилось до 317 усл. ед., а диапазон стал уже (от 77 до 442). У *L. sativus* в 2012 г. данный показатель (637 усл. ед.) был меньше среднего (рассчитанного для всех образцов), в 2013 г. он сократился до 322 усл. ед. Аналогичная картина наблюдалась у образцов *L. sylvestris*: в 2012 г. – 437, в 2013 г. – 275 усл. ед.

Самое высокое содержание полиолов определено у *L. sativus* (3152 усл. ед.), более низкое – у образцов *L. linifolius* (2307), *L. vernus* (1050), *L. sylvestris* (619), *L. latifolius* (348), наименьшее – у *L. tuberosus* (66).

Максимальное содержание эритритола и фитостеролов наблюдалось у образцов *L. sativus* (1 и 22), суммы полиолов – у *L. sativus* и *L. linifolius* (3115 и 2307 усл. ед. соответственно).

Свободные жирные кислоты и ацилглицеролы. Идентифицировано 19 св ЖК, среди них насыщенные (каприновая, ундециловая, лауриновая, пальмитиновая, стеариновая, арахиновая, бегеновая, лигноцериновая, церотиновая, монтановая, мелиссовая кислоты), ненасыщенные (олеиновая, линолевая, линоленовая кислоты), гидроксикислоты (гидроксиоктодекановая, гидрокситетракозановая, гидроксигекакозановая, гидроксиктакозановая, гидрокситриаконтановая) и моноацилглицеролы (МАГ-1 С16:0, МАГ-1 С18:0) (см. Прил. 1).

В 2012 г. общее содержание св ЖК в зеленой массе чины составило 248 усл. ед. (пределы варьирования от 37 до 732), МАГ – 1 усл. ед. (от 0 до 21). В 2013 г. значения св ЖК и МАГ снизились до 52 и 0.5 усл. ед., а диапазон сузился (10–138 для св ЖК и 0–2 для МАГ) (см. рис. 2).

Гидроксигекакозановая, пальмитиновая, линоленовая и стеариновая кислоты характеризовались самыми высокими показателями, их доля в общем содержании св ЖК и гидроксикислот равнялась 32, 22, 14 и 13 % соответственно. Доля линолевой кислоты в среднем составила 7 %, каприновой – 5 %, олеиновой – 3 %, гидроксиктакозановой – 2 %, ундециловой – 1 %. Доля минорных св ЖК – менее 1 %.

Наибольшее среднее содержание св ЖК установлено для образцов *L. latifolius* (до 345 усл. ед.). У других видов

чины эти показатели были ниже: *L. sativus* – 162 усл. ед., *L. sylvestris* – 131, *L. linifolius* – 114, *L. tuberosus* – 86 усл. ед. Для *L. vernus* определены самые низкие значения св ЖК – 50 усл. ед., однако этот вид выделился по содержанию МАГ-1 С16:0 (до 11 усл. ед.) и МАГ-1 С18:0 (до 10). У остальных видов показатели МАГ были значительно ниже.

Обсуждение

В нашем эксперименте наблюдалась значительная меж- и внутривидовая изменчивость образцов *Lathyrus* как по количественному, так и по качественному составу идентифицированных веществ (см. Прил. 1).

Анализ полученных результатов показал сильное варьирование показателей в зависимости от погодных условий (см. рис. 2). Высокие температуры и большое количество осадков (2013 г.) способствовали накоплению сахаров за счет увеличения доли моносахаров, а более холодные и сухие условия 2012 г. – накоплению многоатомных спиртов, св ЖК и олигосахаров.

Для определения достоверности влияния погодных условий на изученные признаки был проведен однофакторный дисперсионный анализ. Изменчивость показателей суммы сахаров и св ЖК, рибозы, арабинозы, ксилозы, альтрозы, рамнозы, маннозы, глюкозы, галактозы, сахарозы, мальтозы, рутинозы, раффинозы, пальмитиновой, стеариновой, олеиновой, линолевой, линоленовой, лигноцеринового, гидроксигексаказановой, гидрокситриактановой кислот, стигмастерола, триетолола, глицерола, ксилитола, эритритолола, ононитолола, сорбитолола, маннитолола, фитолола, β -ситостерола, кампестерола, фосфата, глюкоза-1-фосфата, метилфосфата, треоно-1,4-лактона и глюконовой кислоты-1,4-лактона достоверно зависела от условий выращивания (рис. 3, Прил. 2). На остальные соединения погодные условия не оказывали достоверного влияния. Наиболее сильно условия произрастания воздействовали на накопление в зеленой массе маннозы (доля влияния $\eta^2 = 62.9\%$), рамнозы (62.3), глюкозы (56.7), раффинозы (41.1), альтрозы (40.9%). Изменчивость показателей суммы св ЖК определялась метеоусловиями на 34.1%, особо зависимыми оказались линоленовая (51.1) и пальмитиновая (46.9%) кислоты. Из фитостеролов самые высокие значения η^2 были установлены у кампестерола (80.2%) и стигмастерола (71.6), из многоатомных спиртов – у триетолола (53.6) и маннитолола (37.9%). Заметно воздействовала погода на содержание производных фосфорной кислоты (60.0%), глюкозо-1-фосфата (36.7) и треоно-1,4-лактона (31.5%). Таким образом, погодные условия оказывали существенное влияние на накопление в зеленой массе чины значительной части идентифицированных соединений.

Для определения взаимосвязей между биохимическими признаками, выявления закономерностей их варьирования в зависимости от погодных условий, генотипа и таксономической (видовой) принадлежности был проведен факторный анализ по методу главных компонент. В результате выявлено 10 факторов, определяющих 65.8% общей дисперсии признаков. В первом факторе (F1 = 20.7% от общей дисперсии) с отрицательной взаимосвязью согласованно изменяются две большие группы биохимических

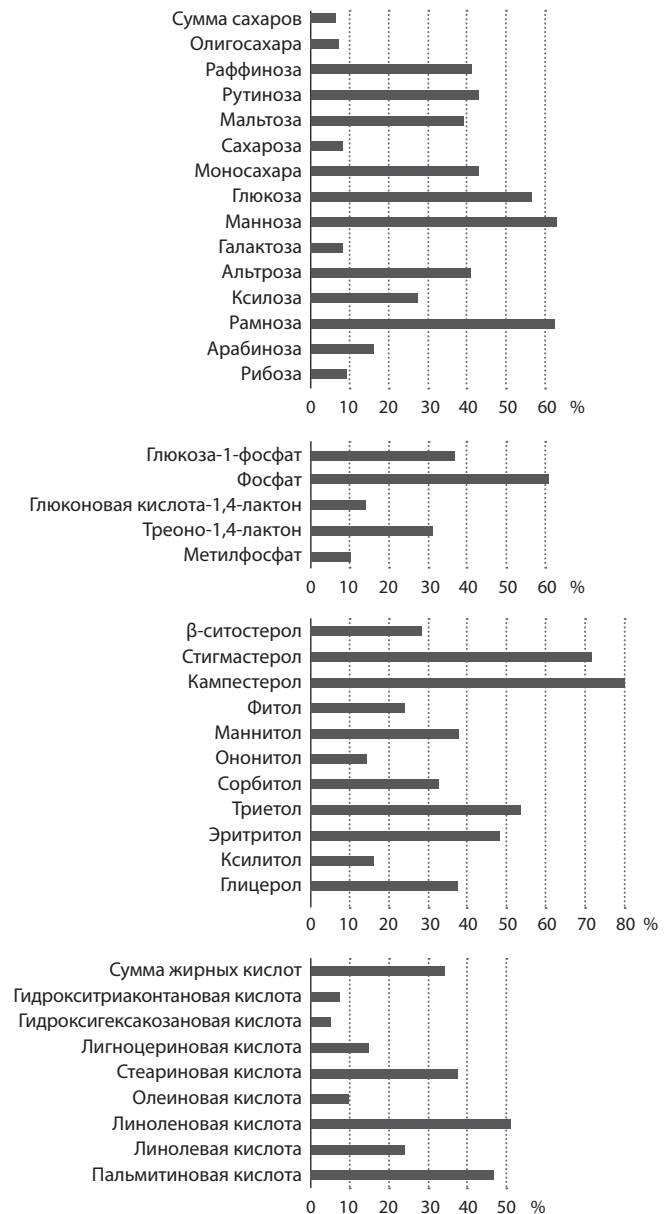


Рис. 3. Доля влияния (η^2) погодных условий на изменчивость биохимических признаков.

признаков. В первую группу вошли рамноза, ксилоза, альтроза, глюкоза, мальтоза, рутиноза, раффиноза, эритритол, триетол, маннитол, кампестерол, стигмастерол, фосфат, глюкоза-1-фосфат, во вторую – пальмитиновая, линоленовая, линоленовая, стеариновая кислоты, глицерол, сорбитол, β -ситостерол, треоно-1,4-лактон. Этот фактор показывает, что в зеленой массе чины при высоком содержании соединений из первой группы наблюдается низкое содержание веществ из второй, и наоборот. Ведущими признаками F1, определяющими варьирование остальных, являются кампестерол, стигмастерол, линоленовая и пальмитиновая кислоты. Второй фактор (F2 7.5%) выявляет связь между сорбозой и фруктозой. Третий (F3 6.8%) определяет взаимосвязь метил-инозитола, глицеральдегида, альфа-метилглюкофуранозиды, метилглюкозида. В четвертом (F4 6.3%) скоррелированы

каприновая, олеиновая и гидрокситетракозановая кислоты. Пятый (F5 5.4 %) включает арахидоновую, бегеновую, гидроксигексакозановую и гидроксиктакозановую кислоты. В состав шестого фактора (F6 4.8 %) входят меллиссовая и гидроксиктадекановая кислоты, седьмого (F7 4.1 %) – ононитол, восьмого (F8 3.6 %) – глицерол-3-фосфат, девятого (F9 3.5 %) – лупеол и гуанозин, десятого (F10 3.3 %) – мио-инозитол-2-фосфат и уридин.

Изучая распределение образцов в системе двух первых факторов, можно заметить, что растения сгруппировались по годам исследования (рис. 4). В правой части графика сконцентрировались сорта с высокими показателями сахаров (рамнозы, ксиллозы, альтрозы, глюкозы, мальтозы, рутинозы, раффинозы, глюкозы-1-фосфата), фосфата, эритритола, триктола, маннитола, кампестерола, стигмастерола и низкими – св ЖК (пальмитиновой, линолевой, линоленовой, стеариновой), глицерола, сорбитола, β -ситостерола, треоно-1,4-лактона. В левой части расположились образцы с противоположными значениями перечисленных выше соединений, в верхней – с минимальными показателями сорбозы и фруктозы, в нижней – с максимальными величинами этих же сахаров. Таким образом, образцы репродукции 2013 г. сосредоточились в зоне высокого содержания большинства сахаров, а образцы 2012 г. – в области св ЖК. Неблагоприятные условия 2012 г. способствовали накоплению глицерола, сорбитола, β -ситостерола, а оптимальные для роста и развития условия 2013 г. – эритритола, триктола, маннитола, кампестерола, стигмастерола. У дикорастущих видов *L. vernus*, *L. linifolius* и *L. tuberosus* показатели большинства сахаров, многоатомных спиртов и св ЖК находились в области средних значений, а фруктозы и сорбозы – в области низких значений. Образцы *L. sylvestris* отличались от других дикорастущих форм более высоким содержанием фруктозы и сорбозы. *L. latifolius* по многим признакам был близок к *L. sylvestris*. Возделываемый в культуре *L. sativus* отличался высоким полиморфизмом всех изученных признаков. Большинство сортов *L. sativus* расположились в области средних и высоких значений фруктозы и сорбозы, по остальным биохимическим признакам видоспецифичных группировок не наблюдалось: образцы распределились по графику в соответствии с индивидуальными особенностями генотипов и их нормой реакции на погодные условия.

Факторы F3–F10 выявили неоднородность образцов по каждой из главных компонент (Прил. 3). Максимальные показатели нагрузок по большинству факторов отмечались у образцов *L. sativus* (к-34, к-900), *L. linifolius* (N-597422), *L. vernus* (N-591179, N-593953).

По данным U. Chavan (1998), зеленая масса чины характеризуется высоким содержанием сахаров. В растении сахара играют роль осмопротекторов, стабилизаторов мембран и белков, в том числе при воздействии низких температур. Поэтому образцы с высоким содержанием сахаров, особенно олигосахаров и раффинозы, более устойчивы к абиотическим факторам среды. Олигосахара накапливаются растением в ответ на холодовый стресс (Krasenski, Jonak, 2012; Moreno et al., 2018). В нашем опыте в год с более низкими температурами наблюдался рост содержания олигосахаров, что подтверждает вы-

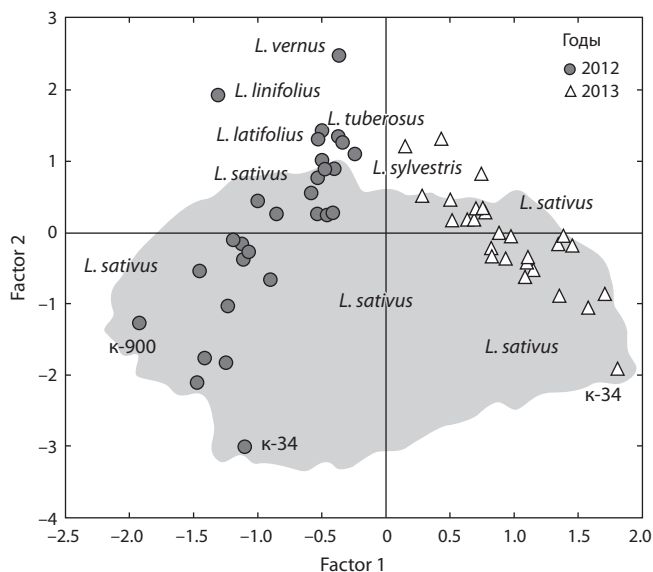


Рис. 4. Распределение образцов в факторном пространстве первых двух факторов (Factor 1, Factor 2).

песказанное. Самые высокие значения раффинозы были определены у *L. sativus*, образцы этого вида могут быть рекомендованы для селекции адаптивных к стрессу и холодоустойчивых сортов чины.

В ряде исследований отмечается, что содержание в пище и кормах раффинозы более 0.4 % на сухое вещество может вызвать диспепсические расстройства (Muzquiz et al., 2012). В нашем эксперименте доля раффинозы не превышала обозначенной величины, поэтому зеленую массу всех изученных видов чины можно использовать на корм животным.

Маннитол, арабинитол, сорбитол, галактинол, дульцитол, эритритол и другие полиолы улучшают адаптационные возможности растения к солевому, водному и температурному стрессам. Образцы с их высоким содержанием могут быть выделены как потенциально устойчивые к неблагоприятным факторам среды (Tibbett et al., 2002; Majumder, Biswas, 2006; Dong et al., 2013; Baudier et al., 2014; Zhou et al., 2014; Patel, Williamson, 2016; Moreno et al., 2018). По нашим данным содержание глицерола и сорбитола в зеленой массе чины было выше в холодных и сухих условиях 2012 г. (23 и 56 усл. ед. соответственно), что подтверждает результаты вышеперечисленных авторов. Самые высокие показатели глицерола и сорбитола установлены для *L. sativus*.

Инозитол, его изомеры и производные, в том числе фосфатные (метил-инозитол, хиро-инозитол, мио-инозитол, ононитол, мио-инозитол-2-фосфат), участвуют в биосинтезе клеточных мембран, регуляции роста растений, входят в состав фосфатного «депо» клетки, относятся к антистрессовым факторам защиты растений (осмолитам) (Dong et al., 2013). В нашем исследовании средние показатели ононинола были выше при развитии растений в холодных сухих условиях, чем в оптимальных (505 и 245 усл. ед. соответственно). Подобная картина наблюдалась и по содержанию в зеленой массе *L. sativus* маннитола, ксилитола, эритритола – в неблагоприятных

условиях их количество возрастало. Максимальное содержание метил-инозитола, хиро-инозитола и мио-инозитол-2-фосфата было выявлено у *L. sativus* (200, 40 и 0.5 усл. ед. соответственно), мио-инозитола и ононитола – у *L. linifolius* (212 и 2088 усл. ед. соответственно). В целом у всех видов чины отмечены высокие показатели многоатомных спиртов, что объясняет их устойчивость к абиотическим и биотическим стрессам.

Фитостеролы играют большую роль в росте и развитии растений, так как являются предшественниками фитогормонов (Beebe, Turgeon, 1992; Deng et al., 2016; Valitova et al., 2016). Согласно литературным сведениям, основной фитостерол в растениях – β -ситостерол, что совпадает с нашими результатами: 86.5 % от суммы идентифицированных нами стеролов приходилось на β -ситостерол. Суммарное содержание фитостеролов в зеленой массе чины составило 39 усл. ед.

На поверхности семян *L. sativus* среди св ЖК преобладают пальмитолеиновая и пальмитиновая кислоты, далее по представленности идут: стеариновая, миристиновая, олеиновая, арахидовая, каприновая, бегеновая, линолевая и линоленовая кислоты (Adhikary et al., 2016). В нашем исследовании основная часть идентифицированных св ЖК также приходилась на пальмитиновую, линолеву, линоленовую, олеиновую и стеариновую кислоты. Наличие этих св ЖК в зеленой массе характеризует чину как высокопитательную кормовую культуру.

Таким образом, в зеленой массе чины нами идентифицировано около 300 соединений (Соловьева и др., 2019), более 60 из них описаны в настоящей статье. Показатели большинства проанализированных биохимических веществ отличались широким диапазоном варьирования. Они значительно изменялись в зависимости от генотипа, видовой принадлежности образцов и года исследования. Изученные образцы характеризовались высоким внутри- и межвидовым полиморфизмом как по количественному, так и по качественному составу идентифицированных веществ.

Дикорастущие виды *L. vernus*, *L. linifolius* и *L. tuberosus* имели средние показатели большинства сахаров, многоатомных спиртов, св ЖК и низкие – фруктозы и сорбозы. *L. sylvestris* и *L. latifolius* по содержанию сахаров занимали промежуточное положение между перечисленными дикими видами и возделываемым в культуре *L. sativus*. Вид *L. sativus* выделялся максимальным количеством сахаров в зеленой массе, *L. linifolius* – ононитола, мио-инозитола и глицерол-3-фосфата, *L. vernus* – МАГ и метилпентофуранозиды.

Сравнительный анализ позволил выделить образцы для дальнейшего углубленного изучения сахаров, многоатомных спиртов, св ЖК, фитостеролов и др. Это особенно ценно для будущих исследований в связи с тем, что данные вещества служат показателями качества зеленой массы и устойчивости к неблагоприятным факторам среды. Выделенные образцы могут быть использованы для получения как высокопитательных, так и устойчивых сортов *Lathyrus*. Учитывая современные достижения геномики, можно рассматривать такие образцы как источники качества и устойчивости не только для чины, но и для других культур.

Заключение

Выявлен значительный полиморфизм биохимических признаков у диких и культурных представителей рода *Lathyrus*. Полученные результаты доказывают высокий потенциал изученных видов для современного сельскохозяйственного производства и новых направлений селекции.

Привлечение *L. sativus*, *L. sylvestris*, *L. vernus*, *L. linifolius*, *L. latifolius*, *L. tuberosus* в кормопроизводство расширит ассортимент используемых кормовых культур. Благодаря устойчивости к абиотическим стрессам и выявленной питательной ценности, виды чины могут играть важную роль в поддержании продовольственной безопасности в районах с непредсказуемыми погодными условиями.

Список литературы / References

- Бурляева М.О., Соловьева А.Е., Силенко С.И. Исследование генетического разнообразия чины посевной по адаптивности биохимических показателей зеленой массы. *Достижения науки и техники АПК*. 2015;7:52-55.
- [Burlyayeva M.O., Solovyeva A.E., Silenko S.I. The study of grass pea genetic diversity in terms of adaptability of green mass biochemical indices. *Dostizheniya Nauki i Tekhniki APK = Achievements of Science and Technology of AIC*. 2015;7:52-55. (in Russian)]
- Бурляева М.О., Соловьева А.Е., Никишкина М.А., Сергеев Е.А., Тихонова Н.И. Чина посевная (*Lathyrus sativus* L.): исходный материал для селекции на продуктивность и качественный состав семян и зеленой массы. В: Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 856. СПб., 2018.
- [Burlyayeva M.O., Solovyeva A.E., Nikishkina M.A., Sergeev E.A., Tikhonova N.I. Grass pea (*Lathyrus sativus* L.): the initial material for breeding for productivity and quality composition of seeds and green mass. In: Catalog of the World VIR Collection. Iss. 856. St. Petersburg, 2015. (in Russian)]
- Вишнякова М.А., Буравцева Т.А., Булынец С.В., Бурляева М.О., Семенова Е.В., Сеферова И.В., Александрова Т.Г., Яньков И.И., Егорова Г.П., Герасимова Т.В. Коллекция мировых генетических ресурсов зерновых бобовых ВИР: пополнение, сохранение и изучение. СПб., 2010.
- [Vishnyakova M.A., Buravtseva T.A., Bulyntsev S.V., Burlyayeva M.O., Semenova E.V., Seferova I.V., Aleksandrova T.G., Yan'kov I.I., Egorova G.P., Gerasimova T.V. The Collection of the World's Genetic Resources of Grain Legumes in VIR: Replenishment, Preservation and Study. St. Petersburg, 2010. (in Russian)]
- Донской М.М., Донская М.В., Бобков С.В., Селихова Т.Н., Наумкин В.П. Биохимический состав семян чины посевной. *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2019;1(29):70-78. DOI 10.24411/2309-348X-2019-11075.
- [Donskoj M.M., Donskaya M.V., Bobkov S.V., Selihova T.N., Naumkin V.P. Biochemical composition of seeds of indian pea. *Zernobobovoye i Krupyanye Kultury = Legumes and Groat Crops*. 2019; 1(29):70-78. DOI 10.24411/2309-348X-2019-11075. (in Russian)]
- Ивантер Е.В., Коросов А.В. Введение в количественную биологию. Петрозаводск, 2003.
- [Ivanter E.V., Korosov A.V. Introduction to Quantitative Biology. Petrozavodsk, 2003. (in Russian)]
- Ситкин С.И., Ткаченко Е.И., Вахитов Т.Я., Орешко Л.С., Жигалова Т.Н. Метаболом сыворотки крови по данным газовой хроматографии – масс-спектрометрии (ГХ-МС) у пациентов с язвенным колитом и больных целиакией. *Эксперим. и клин. гастроэнтерология*. 2013;12:44-57.
- [Sitkin S.I., Tkachenko Ye.I., Vakhitov T.Ya., Oreshko L.S., Zhigalova T.N. Serum metabolome by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) in ulcerative colitis and celiac disease. *Ekspri-*

- mental'naya i Klinicheskaya Gastroenterologiya = Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2013;12:44-57. (in Russian)]
- Соловьева А.Е., Шеленга Т.В., Шаварда А.Л., Бурляева М.О. Сравнительный анализ диких и культурных видов чины (*Lathyrus* L.) по содержанию веществ первичного и вторичного метаболизма. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2019;23(6):667-674. DOI 10.18699/VJ19.539.
- [Solovyeva A.E., Shelenga T.V., Shavarda A.L., Burlyayeva M.O. Comparative analysis of wild and cultivated *Lathyrus* L. spp. according to their primary and secondary metabolite contents. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(6):667-674. DOI 10.18699/VJ19.539.]
- Adhikary P., Mukherjee A., Barik A. Free fatty acids from *Lathyrus sativus* seed coats acting as short-range attractants to *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored. Prod. Res.* 2016;67:56-62. DOI 10.1016/j.jspr.2016.01.005.
- Baudier K.M., Kaschock-Marenda S.D., Patel N., Diangelus K.L., O'Donnell S., Marenda D.R. Erythritol, a non-nutritive sugar alcohol sweetener and the main component of Truvia®, is a palatable ingested insecticide. *PLoS One*. 2014;9(6):e98949. DOI 10.1371/journal.pone.0098949.
- Beebe D.U., Turgeon R. Localization of galactinol, raffinose, and stachyose synthesis in *Cucurbita pepo* leaves. *Planta*. 1992;188(3):354. DOI 10.1007/BF00192802.
- Campbell C.G. Grass pea. *Lathyrus sativus* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Vol. 18. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, 1997. <https://www.biodiversityinter.nal.org/e-library/publications/detail/grass-pea-lathyrus-sativus-l/>
- Chavan U.D. Chemical and biochemical components of beach pea (*Lathyrus maritimus* L.). Canada Department of Biochemistry, Memorial University of Newfoundland, 1998. <http://research.library.mun.ca/id/eprint/1196>
- Deng S., Wei T., Tan K., Hu M., Li F., Zhai Y., Ye S., Xiao Y., Hou L., Pei Y., Luo M. Phytosterol content and the campesterol: sitosterol ratio influence cotton fiber development: role of phytosterols in cell elongation. *Sci. China Life Sci.* 2016;59:183-193. DOI 10.1007/s11427-015-4992-3.
- Dong J., Yan W., Bock C., Nokhrina K., Keller W., Georges F. Perturbing the metabolic dynamics of myo-inositol in developing *Brassica napus* seeds through *in vivo* methylation impacts its utilization as phytate precursor and affects downstream metabolic pathways. *BMC Plant Biol.* 2013;13:84. DOI 10.1186/1471-2229-13-84.
- Grella E.R., Rybiński W., Matras J., Sobolewska S. Variability of phenotypic and morphological characteristics of some *Lathyrus sativus* L. and *Lathyrus cicera* L. accessions and nutritional traits of their seeds. *Genet. Resour. Crop Evol.* 2012;59:1687-1703. DOI 10.1007/s10722-011-9791-5.
- Hong J., Yang L., Zhang D., Shi J. Plant metabolomics: an indispensable system biology tool for plant science. *Int. J. Mol. Sci.* 2016;17(6):767. DOI 10.3390/ijms17060767.
- Krasenski J., Jonak C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *J. Exp. Bot.* 2012;63(4):1593-1608. DOI 10.1093/jxb/err460.
- Majumder A.L., Biswas B.B. Biology of Inositols and Phosphoinositides. Springer, 2006. DOI 10.1007/0-387-27600-9.
- Moreno A.S., Perotti V.E., Margarit E., Bello F., Vázquez D.E., Podestá F.E., Tripodi K.E.J. Metabolic profiling and quality assessment during the postharvest of two tangor varieties subjected to heat treatments. *Postharvest Biol. Technol.* 2018;142:10-18. DOI 10.1016/j.postharvbio.2018.03.014.
- Muzquiz M., Varela A., Burbano C., Cuadrado C., Guillamon E., Pedrosa M.M. Bioactive compounds in legumes: pronutritive and antinutritive actions. Implications for nutrition and health. *Phytochem. Rev.* 2012;11:227-244.
- Patel T.K., Williamson J.D. Mannitol in plants, fungi, and plant-fungal interactions. *Trends Plant Sci.* 2016;21(6):486-497. DOI 10.1016/j.tplants.2016.01.006.
- Poland C., Faller T., Tisor L. Effect of chickling vetch (*Lathyrus sativus* L.) or alfalfa (*Medicago sativa*) hay in gestating ewe diets. *Lathyrus Lathyrism Newsletter*. 2003;3:38-40.
- Puzanskiy R., Romanyuk D., Shishova M. Coordinated alterations in gene expression and metabolomic profiles of *Chlamydomonas reinhardtii* during batch autotrophic culturing. *Bio. Comm.* 2018;63(1):87-99. DOI 10.21638/spbu03.2018.110.
- Rizvi A.H., Sarker A., Dogra A. Enhancing grass pea (*Lathyrus sativus* L.) production in problematic soils of South Asia for nutritional security. *Indian J. Genet. Plant Breed.* 2016;76:583-592. DOI 10.5958/0975-6906.2016.00074.2.
- Sarkar A., Emmrich P.M.F., Sarker A., Zong X., Martin C., Wang T.L. Grass pea: remodeling an ancient insurance crop for climate resilience. In: Kole C. (Ed.). *Genomic Designing of Climate-Smart Pulse Crops*. Springer, Cham, 2019;425-469. DOI 10.1007/978-3-319-96932-9_9.
- Steinhauser D., Kopka J. Methods, applications and concepts of metabolite profiling: primary metabolism. In: Baginsky S., Fernie A.R. (Eds.). *Plant Systems Biology*. Basel: Birkhäuser Basel, 2007. DOI 10.1007/978-3-7643-7439-6_8.
- Tibbett M., Sanders F.E., Cairney J.W. Low-temperature-induced changes in trehalose, mannitol and arabitol associated with enhanced tolerance to freezing in ectomycorrhizal basidiomycetes (*Hebeloma* spp.). *Mycorrhiza*. 2002;12(5):249-255. DOI 10.1007/s00572-002-0183-8.
- Valitova J.N., Sulkarnayeva A.G., Minibayeva F.V. Plant sterols: diversity, biosynthesis, and physiological functions. *Biochemistry (Moscow)*. 2016;81(8):819-834. DOI 10.1134/S0006297916080046.
- Worley B., Powers R. Multivariate analysis in metabolomics. *Curr. Metabolomics*. 2012;1(1):92-107. DOI 10.2174/2213235X11301010092.
- Zhou J., Yang Y., Yu J., Wang L., Yu X., Ohtani M., Kusano M., Saito K., Demura T., Zhuge Q. Responses of *Populus trichocarpa* galactinol synthase genes to abiotic stresses. *J. Plant Res.* 2014;127(2):347-358. DOI 10.1007/s10265-013-0597-8.

ORCID ID

A.E. Solovyeva orcid.org/0000-0002-6201-4294
T.V. Shelenga orcid.org/0000-0003-3992-5353
A.L. Shavarda orcid.org/0000-0003-1778-2814
M.O. Burlyayeva orcid.org/0000-0002-3708-2594

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР, номер государственной регистрации 0662-2019-0002.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 13.05.2020. После доработки 04.08.2020. Принята к публикации 17.08.2020.