

## Сравнительный анализ диких и культурных видов чины (*Lathyrus* L.) по содержанию веществ первичного и вторичного метаболизма

А.Е. Соловьева<sup>1</sup>, Т.В. Шеленга<sup>1</sup>, А.Л. Шаварда<sup>1, 2, 3</sup>, М.О. Бурляева<sup>1</sup> 

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

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

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

 e-mail: m.burlyaeva@vir.nw.ru

Виды рода *Lathyrus* L. известны как кормовые и лекарственные растения, используемые в народной медицине и гомеопатии. Содержание белка, незаменимых аминокислот и каротина в зеленой массе чины выше, чем у других однолетних зернобобовых растений, традиционно культивируемых в России. До настоящего времени требования к качеству культуры сводились к высокому содержанию белка и сухого вещества в семенах и вегетативной массе. Углубленный биохимический анализ образцов из коллекции генетических ресурсов растений существенно улучшит отбор исходного материала для селекции. Изучение растительных ресурсов с использованием метода газовой хроматографии с масс-спектрометрией позволяет решить подобные задачи. В связи с вышесказанным нашей целью было исследование органических кислот, свободных аминокислот и соединений вторичного метаболизма в зеленой массе чины для всесторонней оценки ее кормовой и фармакологической ценности. Анализировали 32 образца *Lathyrus sativus* L., *L. tuberosus* L., *L. sylvestris* L., *L. vernus* (L.) Bernh., *L. latifolius* L., *L. linifolius* (Reichard) Bassler из коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова. Изученные образцы *Lathyrus* обладали значительной межвидовой и внутривидовой изменчивостью как по составу (наличию), так и по количеству идентифицированных веществ. Анализ растений в разные годы подтвердил зависимость биохимических показателей от погодных условий. Более холодные и сухие условия 2012 г. способствовали накоплению органических кислот (среднее – 890 мг/100 г), свободных аминокислот (среднее – 201.59 мг/100 г) и соединений вторичного метаболизма (среднее – 84.14 мг/100 г). Диапазон изменчивости органических кислот составил от 140 до 2140, свободных аминокислот – от 11.8 до 610, соединений вторичного метаболизма – от 4.4 до 224.6 мг/100 г. Выделены образцы чины посевной: с повышенным содержанием органических кислот, свободных аминокислот и соединений вторичного метаболизма – к-900 (Колумбия) (2140, 610 и 178 мг/100 г), свободных аминокислот – к-51 (Грузия) и к-959 (Афганистан) (401.29 и 540.63 мг/100 г), соединений вторичного метаболизма – к-893 (Эритрея) (199.39 мг/100 г) и другие, которые могут служить исходным материалом для создания сортов разного направления использования: кормового и лекарственного.

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 веществ первичного и вторичного метаболизма. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019;23(6):667-674. DOI 10.18699/VJ19.539

## Comparative analysis of wild and cultivated *Lathyrus* L. spp. according to their primary and secondary metabolite contents

А.Е. Solovyeva<sup>1</sup>, T.V. Shelenga<sup>1</sup>, A.L. Shavarda<sup>1, 2, 3</sup>, M.O. Burlyaeva<sup>1</sup> 

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

<sup>2</sup> St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

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

 e-mail: m.burlyaeva@vir.nw.ru

Species of the genus *Lathyrus* L. are known as forage and medicinal plants, widely used in traditional medicine and homeopathy. The content of protein, essential amino acids and carotene in their green biomass is higher than in other annual leguminous plants traditionally cultivated in Russia. Until now, the requirements for the crop's quality were reduced to a high content of protein and dry matter in seeds and herbage. In-depth biochemical analysis of accessions from the collection of plant genetic resources will significantly improve selection of source materials for breeding. Such tasks can be solved using gas chromatography with mass spectrometry in plant diversity studies. In view of the above, our goal was to analyze organic acids, free amino acids and secondary metabolites in green biomass of *Lathyrus* to facilitate comprehensive assessment of its forage and pharmacological value. We analyzed

32 accessions of *Lathyrus sativus* L., *L. tuberosus* L., *L. sylvestris* L., *L. vernus* (L.) Bernh., *L. latifolius* L. and *L. linifolius* (Reichard) Bassler from the collection of the Vavilov Institute (VIR). The studied *Lathyrus* accessions had significant interspecific and intraspecific variability both in the composition (presence) and number of the identified compounds. The analysis of plants across different years confirmed that biochemical parameters depended on weather conditions. The colder and drier conditions of 2012 contributed to the accumulation of organic acids (mean: 890 mg/100 g), free amino acids (mean: 201.59 mg/100 g), and secondary metabolites (mean: 84.14 mg/100 g). The range of variability for organic acids ranged from 140 to 2140, for free amino acids from 11.8 to 610, and for secondary metabolites from 4.4 to 224.6 mg/100 g. Grass pea accessions with high organic acid, free amino acid and secondary metabolite contents were identified: k-900 (Colombia) for organic acids (2140, 610 and 178 mg/100 g); k-51 (Georgia) and k-959 (Afghanistan) for free amino acids (401.29 and 540.63 mg/100 g); k-893 (Eritrea) for secondary metabolites (199.39 mg/100 g), etc. They can serve as source material for the development of cultivars for different uses (forage and medicinal).

Key words: *Lathyrus* L.; wild species; varieties; green mass; gas chromatography; genetic resource; polymorphism of characters.

**For citation:** Solovyeva A.E., Shelenga T.V., Shavarda A.L., Burlyeva M.O. Comparative analysis of wild and cultivated *Lathyrus* L. spp. according to their primary and secondary metabolite contents. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2019;23(6):667-674. DOI 10.18699/VJ19.539 (in Russian)

## Введение

Исследование химического состава растений, возделываемых в культуре, и их дикорастущих родичей очень важно как с теоретической, так и с практической точки зрения. Актуальными остаются поиск и внедрение в практику новых растений – источников биологически активных соединений, имеющих целебные свойства. Наиболее изучены химический состав и фармакологические свойства у *Lathyrus sativus* L., *L. pratensis* L. и *L. tuberosus* L. У видов *L. sylvestris* L., *L. vernus* (L.) Bernh., *L. niger* (L.) Bernh. исследована биологическая активность некоторых химических компонентов. Широкая фармакотерапевтическая востребованность чины обусловлена ее макро- и микроэлементным составом, наличием флавоноидов и комплекса незаменимых аминокислот (Растительные ресурсы СССР, 1987, 2011; Зайчикова, 2002а, б). Виды рода *Lathyrus* L. известны и как кормовые растения, отличающиеся высоким содержанием белка в семенах и вегетативной массе (Павлова, 2001; Бурляева и др., 2012).

При создании сортов чины основное внимание уделяется урожайности, устойчивости к биотическим и абиотическим факторам среды, а также признакам, обеспечивающим кормовую ценность. Углубленный биохимический анализ используют для решения многих задач, таких как оценка сортовой специфичности семян (Смоликова и др., 2015; Лоскутов и др., 2016), влияние процессов окультуривания и стрессовых факторов окружающей среды (Конарев и др., 2015; Puzanskiy et al., 2015). Современные методы газовой хроматографии с масс-селективной детекцией позволяют изучить биохимический состав в динамике, в том числе в различных условиях произрастания (Конарев и др., 2015; Puzanskiy et al., 2015).

Коллекция видов рода *Lathyrus* ВИР насчитывает 2055 образцов, относящихся более чем к 50 видам. В ней широко представлены местные сорта, сорта отечественной и зарубежной селекции, а также дикие виды из европейской части России, Европы, Азии, Африки, Австралии и др. На протяжении многих лет образцы из коллекции изучали в основном по содержанию белка в семенах и зеленой массе. Расширенные биохимические исследования диких видов и культивируемых форм чины до настоящего времени не проводились. Не найдены нами и научные работы, посвященные изучению изменчивости биохимического

состава зеленой массы чины в зависимости от погодных условий.

При создании сортов чины кормового, пищевого и лекарственного назначения важную роль играет селекция на повышенное содержание питательных веществ и соединений вторичного метаболизма в зеленой массе. Цель нашей работы – изучение биохимического состава зеленой массы чины для всестороннего анализа ее кормовой и фармакологической ценности. Задачами исследования были: изучение меж- и внутривидового полиморфизма биохимических признаков видов рода *Lathyrus*, определение силы влияния погодных условий на анализируемые показатели и выявление образцов, наиболее перспективных для селекции.

## Материалы и методы

В опыт было включено 32 образца шести видов чины из коллекции ВИР: чина (ч.) посевная (*L. sativus*), ч. лесная (*L. sylvestris*), ч. весенняя (*L. vernus*), ч. льнолистная (*L. linifolius*), ч. широколиственная (*L. latifolius*) и ч. клубненосная (*L. tuberosus*), выращенных в окрестностях г. Санкт-Петербурга в 2012 и 2013 гг. на полях Пушкинских лабораторий ВИР. Растения возделывали на метровых делянках (1 м<sup>2</sup>) в двух повторностях (делянки были расположены в одном и том же месте), на дерново-подзолистой почве при естественном увлажнении по стандартным методикам (агротехника после пропашных культур), принятым в ВИР (Вишнякова и др., 2010). Метеорологические условия во время вегетации растений были контрастными. В 2012 г. сумма активных температур составляла 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. Анализировали свежую зеленую массу растений: пять растений каждого образца – стебли, листья и бобы – в трех аналитических повторностях.

10 г образца взвешивали, гомогенизировали с соответствующим количеством этанола, пробу настаивали в течение 30 дней при 5–6 °С. Экстракт (200 мкл) выпаривали досуха на установке CentriVapConcentrator фирмы Labconco (США). Сухой остаток силилировали с помощью бис(триметилсилил)трифторацетамида.

Разделение силилированных соединений проводили на капиллярной колонке HP-5MS (5% фенил)-95% метилполисилоксан (30.0 м, 250.00 мкм, 0.25 мкм) на хроматографе Agilent 6850 с квадрупольным масс-селективным детектором Agilent 5975B VL MSD фирмы Agilent Technologies (США). Условия проведения хроматографического исследования: скорость потока гелия через колонку – 1.5 мл/мин.; программа нагревания колонки – от +70 до +320 °С; скорость нагревания – 4 °С в 1 мин. Температура детектора масс спектрометра +250 °С, температура инжектора +300 °С, объем пробы 1 мкл. Внутренним стандартом служил раствор трикозана в пиридине (1 мкг/мл).

Полученные данные обрабатывали с помощью программ UniChrom, AMDIS и библиотек масс-спектров NIST 2010 Научного парка Санкт-Петербургского университета и Ботанического института Российской академии наук. Результаты анализировали с помощью программ MS Excel 2007 и Statistica 7.0. Воздействие условий среды на проявление биохимических признаков оценивали с использованием однофакторного дисперсионного анализа при помощи критерия Фишера (LSD-test). Долю (силу) влияния фактора –  $\eta^2$  (коэффициент внутрикласовой корреляции – intraclass correlation, в %) вычисляли по Фишеру (Ивантер, Коросов, 2003):

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

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

## Результаты

В результате проведенного анализа биохимического состава образцов зеленой массы чины выявлено около 300 компонентов. В настоящей статье обсуждается часть полученных данных (табл. 1, Приложение 1)<sup>1</sup>.

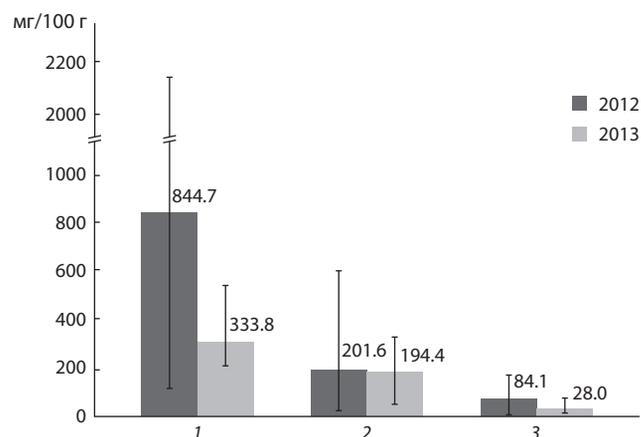
**Органические кислоты.** Содержание органических кислот в образцах зеленой массы чины в 2012 г. в среднем составило 844.72 мг/100 г; в зависимости от генотипа этот показатель варьировал от 136.27 до 2137.37 мг/100 г. В 2013 г. содержание кислот снизилось до 333.77 мг/100 г; у разных образцов этот параметр изменялся в пределах от 215.37 до 544.24 мг/100 г (рис. 1). У образцов чины посевной в 2012 г. среднее значение содержания органических кислот составило 890 с диапазоном изменчивости от 300 до 2140 мг/100 г. В 2013 г. отмечены уменьшение средних показателей до 320 и сужение диапазона до 220–430 мг/100 г. В группе чины лесной в 2012 г. среднее содержание органических кислот – 590, в 2013 г. – 480 мг/100 г. В разные годы у *L. sylvestris* этот показатель был относительно стабилен по сравнению с *L. sativus*, у которого содержание органических кислот снизилось в 2013 г. на 570 мг/100 г. У образцов чины льнолистной, широколистной и весенней содержание органических кислот было несколько выше: 610, 670 и 640 мг/100 г соответственно.

Самый низкий показатель органических кислот отмечен у образцов чины клубненосной: 140 мг/100 г. Наибольшее

**Таблица 1.** Содержание органических кислот, аминокислот и соединений вторичного метаболизма в зеленой массе некоторых видов *Lathyrus* L. (мг/100 г сырого веса)

Вид	Органические кислоты	Аминокислоты	Соединения вторичного метаболизма
<i>L. sativus</i>	610.0 ± 64.0* 220.0–2140.0**	208.6 ± 16.8 41.0–610.0	59.2 ± 8.0 4.4–199.4
<i>L. sylvestris</i>	520.0 ± 84.6 340.0–830.0	205.1 ± 45.9 67.5–340.3	43.1 ± 14.3 15.2–79.8
<i>L. vernus</i>	640.0 ± 94.9 540.0–730.0	28.0 ± 2.9 25.1–31.0	28.1 ± 6.9 21.8–35.7
<i>L. linifolius</i>	830.0 ± 89.5 250.0–1050.0	11.8 ± 6.2 3.1–14.8	71.6 ± 29.7 32.2–100.1
<i>L. latifolius</i>	670.0 ± 75.6 100.0–850.0	136.3 ± 38.3 42.3–157.9	132.4 ± 52.1 81.5–224.6
<i>L. tuberosus</i>	140.0 ± 98.9 2.0–380.0	72.9 ± 25.3 24.8–95.4	6.4 ± 9.8 1.1–19.5

\* Среднее арифметическое ± стандартная ошибка среднего арифметического; \*\* вариабельность.



**Рис. 1.** Содержание органических кислот, свободных аминокислот и фенольных соединений в зеленой массе чины в разные годы выращивания (средние значения, минимум и максимум, мг/100 г сырого веса).

1 – органические кислоты; 2 – свободные аминокислоты; 3 – соединения вторичного метаболизма.

содержание кислот наблюдали в 2012 г. у образца чины посевной к-900 (Колумбия): 2140, в 2013 г. – у чины лесной к-591293 (Германия) – 540 мг/100 г.

Органические кислоты были представлены в основном яблочной (цикл Кребса) и треоновой (продукт окисления аскорбиновой кислоты) кислотами, содержание которых составило 156.22 и 120.52 мг/100 г. Второе место заняли глицериновая и лимонная кислоты – 90.63 и 61.32 мг/100 г соответственно. Содержание дегидроабиеотиновой, фосфорной, шавелевой, молочной, фумаровой кислот составило 30.42; 27.14; 25.90; 14.61; 13.78; 10.65 мг/100 г соответственно. Концентрация янтарной, мезоксалеовой, хинной, эритроновой, глюконовой кислот не превышала 10 мг/100 г: 9.17, 6.87, 6.58, 6.34, 5.82 соответственно.

<sup>1</sup> Приложения 1, 2 см. по адресу:  
<http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/pict-2019-23/appx12.pdf>

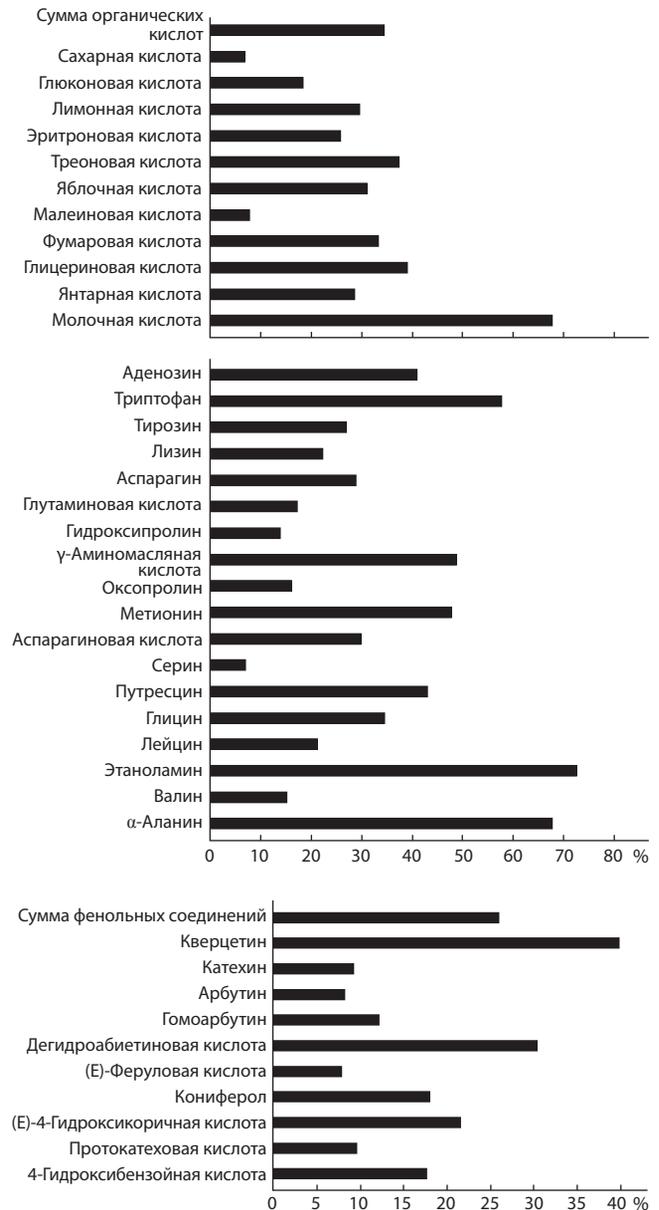
Количество винной, риботоновой, пипеколиновой кислот было 2.77, 2.04, 1.85 мг/100 г соответственно. Накопление остальных кислот (бензойной, никотиновой, малеиновой, 4-гидроксibenзойной, азелаиновой, глюкоаровой, протока- тоховой, шикимовой, галактуроновой, кофейной, синапо- вой, абетиновой, неохлорогеновой) не превышало 0.7, а галактуроновой и глюкоаровой кислот – 0.29 и 0.06 мг/100 г.

**Аминокислоты.** В зеленой массе чины установлено наличие 20 свободных аминокислот, в том числе 8 незаменимых (см. Приложение 1). Среднее содержание свободных аминокислот в 2012 г. было 201.59 (см. рис. 1), этот показатель изменялся от 11.75 до 610.00 мг/100 г. В 2013 г. накопление аминокислот было немного ниже: 194.42 мг/100 г, а диапазон изменчивости этого признака у разных генотипов был в пределах от 40.97 до 340.30 мг/100 г. В 2012 г. наиболее высокие показатели свободных аминокислот определены для образцов чины посевной (230.16), а самые низкие – для чины льнолист- ной (11.75 мг/100 г). В зеленой массе остальных видов они составили: у чины лесной – 114.93, чины широколи- стной – 136.28, чины весенней – 72.90, чины клубнено- сной – 28.02 мг/100 г. В 2013 г. среднее содержание аминокислот в зеленой массе чины лесной было выше (265.22 мг/100 г). А у чины посевной наблюдалось снижение до 185.92 мг/100 г по сравнению с 2012 г. У образцов остальных групп колебания по годам были незначительными.

**Соединения вторичного метаболизма.** Один из важнейших показателей антиоксидантной активности и устойчивости к воздействию внешних факторов среды – нако- пление соединений вторичного метаболизма, в том числе и фенолсодержащих соединений. Эффект воздействия соединений вторичного метаболизма напрямую связан с их концентрацией, поэтому важен не только качествен- ный, но и количественный анализ (Spanou et al., 2010).

Соединения вторичного метаболизма исследованной нами зеленой массы чины были представлены свобод- ными фенолкарбоновыми кислотами (ФК) (среднее со- держание 52.52), хинонами (0.38), флавоноидами (3.49), фенилпропаноидами (0.69) и иридоидами (0.11), в том числе идентифицирован  $\alpha$ -токоферол (2.14 мг/100 г) (см. Приложение 1). Средний показатель соединений вторичного метаболизма в зеленой массе чины в 2012 г. – 84.14 мг/100 г (от 4.45 до 199.39) (см. рис. 1). В 2013 г. он понизился до 28.04 мг/100 г (от 13.23 до 53.45). В 2012 г. самые высокие значения содержания соединений вто- ричного метаболизма определены для образцов чины широколистной (132.44), а наиболее низкие – для чины клубнено- сной (6.42 мг/100 г). У образцов зеленой массы чины посевной, лесной, льнолистной и весенней эти пара- метры (89.32, 78.01, 71.59 и 28.74 мг/100 г соответственно) были ниже, чем значения чины широколистной. У чины посевной и лесной в 2013 г. эти показатели снизились до 29.03 и 19.80 мг/100 г соответственно.

Для определения достоверности влияния погодных условий на содержание изученных нами биохимических признаков проведен однофакторный дисперсионный анализ. Установлено 79 веществ, на которые достоверно воздействуют условия произрастания (табл. 2), включая сумму органических кислот и соединений вторичного метаболизма. Доля (сила) влияния условий среды ( $\eta^2$ ) на



**Рис. 2.** Доля влияния ( $\eta^2$ ) погодных условий на изменчивость биохимических признаков.

содержание органических кислот составила для молочной кислоты 67.9, глицериновой – 39.0, треоновой – 37.5, фумаровой – 33.4, суммы органических кислот – 34.5 % (рис. 2). В наибольшей степени от погодных условий зависело содержание свободных аминокислот, включая аминокислоты и амины: этаноламина ( $\eta^2 = 72.9$  %), лейци- на (51.6), ГАМК ( $\gamma$ -аминомасляной кислоты) (48.9), метионина (47.9), путресцина (43.1), аденозина (41.2), глицина (34.6), аспарагиновой кислоты (29.9), аспарагина (29.0). Доля влияния погоды на изменчивость соедине- ний вторичного метаболизма оказалась самой высокой у кверцетина ( $\eta^2 = 39.8$  %) и дегидроабетиновой кислоты (30.4 %). Для суммы соединений вторичного метаболизма она была 26.1 %.

Несмотря на большое число веществ, идентифициро- ванных в зеленой массе чины, только количественные

**Таблица 2.** Результаты однофакторного дисперсионного анализа по выявлению ассоциации между изменчивостью биохимических признаков и годом репродукции (погодными условиями)

Фактор	df	Молочная к-та			Янтарная к-та			Глицериновая к-та			Фумаровая к-та			Малеиновая к-та		
		SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p
Год	1	6515.0	122.9	0.00	1194.8	23.1	0.00	249259.9	37.0	0.00	5736.3	29.1	0.00	18.8	4.9	0.03
Изменчивость																
остаточная	58	3074.5			3004.4			390349.6			11439.2			222.2		
общая	59	9589.5			4199.2			639609.5			17175.5			241.0		
$\eta^2$		67.9			28.5			39.0			33.4			7.8		
Фактор	df	Яблочная к-та			Треоновая к-та			Эритроновая к-та			Лимонная к-та			Глюконовая к-та		
		SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p
Год	1	319326.9	26.2	0.00	340838.3	34.8	0.00	1664.9	20.2	0.00	92898.4	24.4	0.00	0.3	4.1	0.04
Изменчивость																
остаточная	58	705960.5			567394.8			4780.5			221251.6			3.9		
общая	59	1025287.3			908233.0			6445.4			314150.1			4.2		
$\eta^2$		31.1			37.5			25.8			29.6			6.7		
Фактор	df	Глюконовая к-та			Сумма органических кислот			4-Гидроксibenзойная к-та			Протокатехиновая к-та			(E)-4-Гидроксикоричная к-та		
		SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p
Год	1	1083.8	13.0	0.00	3624902.5	30.6	0.00	0.2	12.4	0.00	0.2	6.2	0.02	853.8	15.9	0.00
Изменчивость																
остаточная	58	4819.6			6880021.4			0.7			1.4			3119.8		
общая	59	5903.3			10504923.9			0.9			1.6			3973.6		
$\eta^2$		18.4			34.5			17.6			9.6			21.5		
Фактор	df	Кониферол			(E)-Феруловая к-та			Катехин			Арбутин			Кверцетин		
		SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p
Год	1	32.9	12.7	0.00	134.5	4.9	0.03	3.3	5.9	0.02	0.9	5.1	0.03	1.1	38.3	0.00
Изменчивость																
остаточная	58	149.9			1576.1			32.8			10.6			1.6		
общая	59	182.9			1710.6			36.1			11.5			2.7		
$\eta^2$		18.0			7.9			9.2			8.1			39.8		
Фактор	df	Хинная к-та			Гомоарбутин			Дегидроабетиновая к-та			Сумма фенольных соединений			Этаноламин		
		SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p
Год	1	2414.1	96.8	0.00	1.2	8.0	0.01	48067.3	25.3	0.00	45145.9	20.5	0.00	16.3	156.3	0.00
Изменчивость																
остаточная	58	1447.1			8.4			110250.0			127578.5			6.0		
общая	59	3861.1			9.6			158317.3			172724.4			22.3		
$\eta^2$		62.5			12.1			30.4			26.1			72.9		
Фактор	df	$\alpha$ -Аланин			Валин			Серин			Лейцин			Аденозин		
		SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p
Год	1	937.3	9.8	0.00	146.9	10.4	0.00	2088.8	4.4	0.04	62.5	15.7	0.00	103.6	40.7	0.00
Изменчивость																
остаточная	58	5546.7			817.2			27385.9			231.1			147.7		
общая	59	6484.0			964.2			29474.7			293.6			251.3		
$\eta^2$		14.5			15.2			7.1			21.3			41.2		

Окончание табл. 2

Фактор	df	Глицин			Путресцин			Аспарагиновая к-та			ГАМК		
		SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p
Год	1	108.2	30.7	0.00	12574.3	43.9	0.00	16051.4	24.8	0.00	763.8	55.4	0.00
Изменчивость													
остаточная	58	204.2			16604.5			37579.3			798.9		
общая	59	312.4			29178.8			53630.7			1562.7		
$\eta^2$		34.6			43.1			29.9			48.9		
Фактор	df	Метионин			Оксопролин			Тирозин			Гидроксипролин		
		SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p
Год	1	1.4	53.4	0.00	908.1	11.3	0.00	31.1	21.6	0.00	0.1	9.4	0.00
Изменчивость													
остаточная	58	1.5			4662.5			83.6			0.7		
общая	59	2.9			5570.6			114.6			0.8		
$\eta^2$		47.9			16.3			27.1			13.9		
Фактор	df	Глутамин			Аспарагин			Лизин			Триптофан		
		SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p
Год	1	8323.9	12.2	0.00	4368.6	23.7	0.00	149.2	16.8	0.00	168.1	79.6	0.00
Изменчивость													
остаточная	58	39610.6			10688.9			513.9			122.5		
общая	59	47934.4			15057.5			663.2			290.6		
$\eta^2$		17.4			29.0			22.5			57.8		

Примечание. SS – сумма квадратов; F – значение критерия Фишера; p – уровень значимости; df – число степеней свободы;  $\eta^2$  – доля влияния.

показатели некоторых из них статистически значимо различали дикорастущие виды между собой: катехин (F (5; 54) = 10.47, p = 0.0000);  $\alpha$ -аланин (F (5; 54) = 2.52, p = 0.039); аспарагин (F (5; 54) = 3.32, p = 0.011); глицин (F (5; 54) = 3.25, p = 0.012); шикимовая кислота (F (5; 54) = 31.66, p = 0.0000). По содержанию аспарагина, глицина,  $\alpha$ -аланина и катехина значительно выделилась чина лесная (*L. sylvestris*), по количеству шикимовой кислоты – чина широколистная (*L. latifolius*) (Приложение 2).

## Обсуждение

Исследованные образцы *Lathyrus* обладают широким полиморфизмом по биохимическому составу зеленой массы. Выявлена значительная межвидовая и внутривидовая изменчивость как по составу (наличию), так и по количеству идентифицированных веществ. Наибольшее содержание органических кислот обнаружено у *L. sativus*: 2140 (к-900, Колумбия), свободных аминокислот – у *L. sylvestris*: 265.22 (к-2017, Германия), суммы соединений вторичного метаболизма – у *L. latifolius*: 132, 44 мг/100 г (и-594176, Германия). Анализ показал сильное варьирование биохимических показателей в зависимости от погодных условий. Более холодный и сухой 2012-й год способствовал накоплению органических кислот, аминокислот и соединений вторичного метаболизма.

Сведений о составе органических кислот в зеленой массе чины в литературных источниках не обнаружено. В изученных нами образцах в основном идентифицированы кислоты, участвующие в процессах клеточного

дыхания, окисления аскорбиновой кислоты (треоновая кислота), природные антисептики и антиоксиданты (азелаиновая кислота), антистрессовые факторы растительной клетки (пипеколиновые и малеиновая кислоты) (Yao et al., 1998; Mahmud et al., 2017). Наиболее высокими показателями отдельных органических кислот отличались следующие образцы чины посевной: к-893 (Эритрея) и к-900 (Колумбия) содержанием яблочной кислоты: 495 и 505 мг/100 г; к-900 (Колумбия) – треоновой кислоты (522); к-275 (Азербайджан) – азелаиновой кислоты (8.20); к-889 (Абиссиния) и к-34 (Россия) – малеиновой кислоты (8.78 и 8.92 мг/100 г); образец чины широколиственной к-51 (Германия) – высоким содержанием пипеколиновой кислоты (59.18 мг/100 г).

Наши данные по свободному аминокислотному составу отличались от приведенных в работе С.Г. Зайчиковой с коллегами (Zaichikova et al., 2001). Эти авторы определили в вегетативной массе чины 18 аминокислот, из них 7 незаменимых, также ими были идентифицированы не обнаруженные нами гистидин и аргинин. В нашем эксперименте, кроме выше перечисленных свободных аминокислот, были выявлены также триптофан, ГАМК, аспарагин, глицин и др. В работе С.Г. Зайчиковой с коллегами основные аминокислоты зеленой массы чины – глутамин и гистидин, на них приходилось 15 и 11.6 % от общего количества идентифицированных аминокислот (Zaichikova et al., 2001). Е. Pastor-Cavada с коллегами (2010) идентифицировали в семенах чины 17 аминокислот, в том числе 9 незаменимых. По нашим данным, зеленая масса чины

содержит 20 аминокислот (8 незаменимых). Основными аминокислотами в семенах были глутаминовая и аспарагиновые кислоты, а в зеленой массе – серин, глутаминовая и аспарагиновые кислоты: 16.4, 16.6 и 13.5 % от общего количества идентифицированных аминокислот. Из незаменимых аминокислот основными в семенах были аргинин, лейцин и лизин, а в зеленой массе – треонин (по сравнению с другими аминокислотами его содержание было значительно выше). Нами выделен образец *L. sativus* к-842 (Таджикистан) с высоким содержанием глицина – 3.26 мг/100 г – показателя устойчивости к стрессовым факторам среды (Лоскутов и др., 2016).

Флавоноиды – основные фенолсодержащие соединения зеленой массы чины, их доля достигает 50 % от общего количества. В нашем исследовании доминирующими компонентами фенолсодержащих соединений являются свободные ФК кислоты, которые обладают самой высокой антиоксидантной активностью (Sheety et al., 2002). Известно, что экстракты чины посевной и лесной в соответствующей концентрации оказывают стимулирующее действие на фагоцитарную и антибактериальную активность нейтрофилов человека, что связано с присутствием в них свободных ФК кислот (Зайчикова, 2002 а, б).

Качественный и количественный составы соединений вторичного метаболизма, идентифицированных нами и F. Sibul с коллегами (2016), различались, что связано с разными методами изучения. Эти исследователи с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии установили широкий спектр гидроксibenзойных и гидроксикоричных кислот в листьях чины, а также высокое содержание хинной кислоты – 30.4 мг/100 г при общем содержании соединений вторичного метаболизма, равном 58.1 мг/100 г сухого веса (с. в.). В нашей работе общее содержание соединений вторичного метаболизма было значительно выше – 246.85, а наибольшее содержание приходилось на феруловую и хинную кислоты (40.63 и 28.30 мг/100 г с. в.). Мы смогли определить только четыре гидроксibenзойные кислоты: пирогаллол, 4-гидроксibenзойную, протокатеховую и бензойную, а F. Sibul с коллегами – шесть кислот. Полученное нами содержание протокатеховой кислоты было несколько меньше, чем у других исследователей (0.2 и 0.9 мг/100 г с. в.). Из гидроксикоричных кислот нами идентифицированы феруловая, синаповая и кофейная кислоты (19.09, 0.03, 2.09), а коллегами – феруловая, *нара*-кумаровая и кофейная кислоты (1.38, 1.42, 1.02 мг/100 г с. в.). Количество феруловой кислоты в наших образцах было намного выше, а кофейной – несколько ниже по сравнению с показателями, приведенными зарубежными учеными. Содержание хлорогеновой кислоты было низким как у наших образцов (0.33), так и в растениях, анализируемых F. Sibul с коллегами, – 0.8 мг/100 г с. в. Показатели лютеолина в изученных нами генотипах были меньше, чем у F. Sibul с коллегами (1.21 и 4 мг/100 г с. в.). В наших образцах содержание катехина и кверцетина выше (0.95 и 4.00), чем у коллег – 0.04 и 1.60 мг/100 г с. в. Содержание кемпферола было практически одинаковым: 1.78 и 1.60 соответственно, а изорамнетина в наших образцах чины было значительно меньше (0.02), чем у зарубежных исследователей (0.53 мг/100 г с. в.). У F. Sibul с коллегами (2016)

определен более широкий спектр флавонов и гликозидов. Мы не идентифицировали изофлавоны, кумарины и ряд гликозидов. Однако в нашем исследовании выявлены другие соединения вторичного метаболизма: гидрохинон, шикимовая кислота, кониферол.

U.D. Chavan (1998) приводит сведения о содержании соединений вторичного метаболизма у чины морской (*L. maritimus* L.), изменяющемся в пределах от 0.5 до 3.0 %, что соответствует полученным нами результатам (0.3 – 0.9 %).

Мы выделили образцы *L. sativus* к-893 (Эритрея) и к-900 (Колумбия) с высоким содержанием соединений вторичного метаболизма: 199.39 и 177.82 мг/100 г, которые могут быть использованы как источники устойчивости и фармакологической ценности.

Наше исследование подтверждает влияние погодных условий (температура, количество осадков) на накопление органических кислот, свободных аминокислот и основных соединений вторичного метаболизма (Попов и др., 2016). По результатам анализа установлены образцы с высоким содержанием веществ – показателей защиты к неблагоприятным факторам среды: малеиновой, пипеколиновой кислот, глицина и суммарного содержания соединений вторичного метаболизма и фармакологически ценных соединений – азелаиновой кислоты, – которые в перспективе могут найти применение при создании новых высокопитательных, устойчивых и лекарственных сортов *Lathyrus*.

## Заключение

В ходе проведенных нами исследований получены новые данные о биохимическом составе зеленой массы чины. Результатами подтверждено, что чина – перспективная кормовая и лекарственная культура, которую можно использовать в различных отраслях народного хозяйства.

## Список литературы / References

- Бурляева М.О., Соловьева А.Е., Никишкина М.А., Расулова М.А., Золотов С.В. Коллекция видов рода *Lathyrus* L. ВИР им. Н.И. Вавилова – источник исходного материала для селекции высокобелковых кормовых сортов чины. Зернобобовые и крупяные культуры. 2012;4:62-71.
- [Burlyaeva M.O., Solovyeva A.E., Nikishkina M.A., Rasulova M.A., Zolotov S.V. Species of the genus *Lathyrus* L. from N.I. Vavilov Institute (VIR) collection – the source of initial material for high-protein forage varieties breeding. Zernobobovye i Krupyanye Kultury = Legumes and Groat Crops. 2012;4:62-71. (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., Другова Е.В. Коллекция мировых генетических ресурсов зерновых бобовых ВИР: пополнение, сохранение и изучение. Методические указания. СПб., 2010.
- [Vishnyakova M.A., Buravtseva T.A., Bulyntsev S.V., Burlyaeva M.O., Semenova E.V., Seferova I.V., Aleksandrova T.G., Jankov I.I., Egorova G.P., Gerasimova T.V., Drugova E.V. The VIR Collection of the Genetic Resources of Grain Legumes: Replenishment, Preservation, and Study Guidelines. St. Petersburg: VIR, 2010. (in Russian)]
- Зайчикова С.Г. Влияние экстракта чины посевной, луговой и лесной на фагоцитарную и антибактериальную активность нейтрофилов человека. Хим.-фарм. журн. 2002а;36(3):36-37. DOI 10.30906/0023-1134-2002-36-3-36-37.
- [Zaichikova S.G. Effect of extracts from various *Lathyrus* species on the phagocytic and antibacterial activity of human neutrophils.

- Khimiko-Farmatsevticheskiy Zhurnal = Journal of Pharmaceutical Chemistry. 2002a;36(3):144-145. (in Russian)]
- Зайчикова С.Г. Изучение влияния экстрактов из отдельных видов чины на В-дифференцировочную и противоопухолевую активность. Хим.-фарм. журн. 2002b;36(4):30-31.  
[Zaichikova S.G. Effect of extracts from various *Lathyrus* species on human B-cell differentiation and tumor growth. Khimiko-Farmatsevticheskiy Zhurnal = Journal of Pharmaceutical Chemistry. 2002b; 36(4):30-31. (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)]
- Конарев А.В., Шеленга Т.В., Перчук И.Н., Блинова Е.В., Лоскутов И.Г. Характеристика разнообразия овса (*Avena* L.) из коллекции ВИР – исходного материала для селекции на устойчивость к фузариозу. Аграр. Россия. 2015;5:2-10.  
[Konarev A.V., Shelenga T.V., Perchuk I.N., Blinova E.V., Loskutov I.G. Characteristic of oat diversity (genus *Avena* L.) from the collection of N.I. Vavilov All-Russia Research Institute of Plants – an initial material for oat fusarium resistance selection. Agrarnaya Rossiya = Agrarian Russia. 2015;5:2-10. (in Russian)]
- Лоскутов И.Г., Шеленга Т.В., Конарев А.В., Шаварда А.Л., Блинова Е.В., Дзюбенко Н.И. Метаболомный подход к сравнительному анализу диких и культурных видов овса (*Avena* L.). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(5):636-642. DOI 10.18699/VJ16.185.  
[Loskutov I.G., Shelenga T.V., Konarev A.V., Shavarda A.L., Blinova E.V., Dzubenko N.I. The metabolomic approach to the comparative analysis of wild and cultivated species of oats (*Avena* L.). Russ. J. Genet. Appl. Res. 2017;7(5):501-508.]
- Павлова Н.С. К изучению химического состава дикорастущих кормовых бобовых Российского Дальнего Востока. Биологические исследования на Горнотаежной станции. 2001;7:78-97.  
[Pavlova N.S. Study of the chemical composition of wild-growing fodder legumes in the Russian Far East. Biologicheskiye Issledovaniya na Gornotayezhnoy Stantsii = Biological Research at the Mountain Reservoir Station. 2001;7:78-97. (in Russian)]
- Попов В.Д., Валге А.М., Сухопаров А.И., Ковалёв В.А. Влияние погодных условий на качество заготавливаемых кормов из трав. Вестн. ВНИИМЖ. 2016;3(23):73-78.  
[Popov V.D., Valge A.M., Sukhoparov A.I., Kovalev V.A. Influence of weather conditions on the quality of grass fodder. Vestnik Vserossiyskogo Nauchno-Issledovatel'skogo Instituta Mekhanizatsii Zhivotnovodstva = Proceedings of the All-Russia Research and Development Institute of Livestock Breeding Mechanization. 2016;3(23): 73-78. (in Russian)]
- Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование. Т. 3. Семейства Hydrangeaceae–Haloragaceae. Л., 1987.  
[Plant Resources of the USSR. Flowering Plants: Chemical Composition and Use. Vol. 3. Families Hydrangeaceae–Haloragaceae. Leningrad, 1987. (in Russian)]
- Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 3. Семейства Fabaceae–Apiaceae. СПб., 2011.  
[Plant Resources of the USSR. Flowering Plants: Composition and Biological Activity. Vol. 3. Families of Fabaceae–Apiaceae. St. Petersburg, 2010. (in Russian)]
- Смоликова Г.Н., Шаварда А.Л., Алексейчук И.В., Чанцева В.В., Медведев С.С. Метаболомный подход к оценке сортовой специфичности семян *Brassica napus* L. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(1):121-127.  
[Smolikova G.N., Shavarda A.L., Alekseychuk I.V., Chantseva V.V., Medvedev S.S. The metabolomic approach to the assessment of cultivar specificity of *Brassica napus* L. seeds. Russ. J. Genet. Appl. Res. 2016;6(1):78-83.]
- Chavan U.D. Chemical and biochemical components of beach pea (*Lathyrus maritimus* L.). Canada Department of Biochemistry. Memorial University of New found land, 1998. <http://research.library.mun.ca/id/eprint/1196>.
- Mahmud J.A., Hasanuzzaman M., Nahar K., Rahman A., Hossain M.S., Fujita M. Maleic acid assisted improvement of metal chelation and antioxidant metabolism confers chromium tolerance in *Brassica juncea* L. Ecotoxicol. Environ. Saf. 2017;144:216-226. DOI 10.1016/j.ecoenv.2017.06.010.
- Pastor-Cavada E., Juan R., Pastor J.E., Alaiz M., Vioque J. Protein isolates from two Mediterranean legumes: *Lathyrus clymenum* and *Lathyrus annuus*. Chemical composition, functional properties and protein characterization. Food Chem. 2010;122:533-538. [https://DOI.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.002](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.002).
- Puzanskiy R.K., Shavarda A.L., Tarakhovskaya E.R., Shishova M.F. Analysis of metabolic profile of *Chlamydomonas reinhardtii* cultivated under autotrophic conditions. Appl. Biochem. Microbiol. 2015;51:83. [https://DOI.org/10.1134/S0003683815010135](https://doi.org/10.1134/S0003683815010135).
- Sheety P., Atallah M.T., Sheety K. Effects of UV treatment on the proline-linked pentose phosphate pathway for phenolics and L-DOPA synthesis in dark germinated *Vicia faba*. Process Biochem. 2002;37: 1285-1295.
- Šibul F., Orčić D., Vasić M., Anačkov G., Nadpal J., Savić A., Mimica-Dukić N. Phenolic profile, antioxidant and anti-inflammatory potential of herband root extracts of seven selected legumes. Ind. Crop. Prod. 2016;83:641-653. [http://dx.DOI.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.057](http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.057).
- Spanou C., Stagos D., Aligiannis N., Kouretas D. Influence of potent antioxidant leguminosae family plant extracts on growth and antioxidant defense system of Hep2 cancer cell line. J. Med. Food. 2010; 13(1):149-155. DOI 10.1089/jmf.2009.0058.
- Yao S.Z., Chen P., Yang X.Y., Fung Y.S., Si S.H. Herbal organic acids. In: Deyl Z., Miksik I., Tagliaro F., Tesarova E. (Ed.). Advanced Chromatographic and Electromigration Methods in BioSciences. J. Chromatogr. Library Series. 1998;60:344-370.
- Zaichikova S.G., Samylina I.A., Burlyaeva M.O. Protein, amino acid and mineral composition of some species from *Lathyrus* genus. Pharm. Chem. J. 2001;35(6):343-344.

#### ORCID ID

A.E. Solovyeva [orcid.org/0000-0002-6201-4294](http://orcid.org/0000-0002-6201-4294)  
T.V. Shelenga [orcid.org/0000-0003-3992-5353](http://orcid.org/0000-0003-3992-5353)  
A.L. Shavarda [orcid.org/0000-0003-1778-2814](http://orcid.org/0000-0003-1778-2814)  
M.O. Burlyaeva [orcid.org/0000-0002-3708-2594](http://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 26.03.2019. После доработки 29.05.2019. Принята к публикации 16.06.2019.