С. М. Мотылева, ВНС, К. С.-Х. Н.,

Г. Ю. Упадышева, ВНС, К. С.-Х. Н.

ФГБНУ ВСТИСП, г. Москва

vstisp@vstisp.org

УДК 634.22:577.13

DOI 10.31676/2073-4948-2018-55-124-128

МЕТАБОЛОМНЫЙ ПОДХОД В ИЗУЧЕНИИ ВЛИЯНИЯ ПОДВОЯ НА БИОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС ПРИВОЯ (НА ПРИМЕРЕ *CERASUS AVIUM* L.)

Резюме. В статье приведены результаты исследований состава низкомолекулярных метаболитов, идентифицированных методом газовой хромато-масс-спектрометрии в листьях *Cerasus avium* L. сорта Чермашная, привитого на разных подвоях (Измайловский, Московия, Степной родник, ВЦ-13, ВСЛ-2, В-5-88, АВЧ-2). Идентифицировано 23 соединения. Установлено, что накопление спирторастворимых веществ в листьях зависит от подвойно-привойной комбинации.

Ключевые слова: *Cerasus avium* L., лист, метаболомика, привойно-подвойные комбинации.

Summary. The article presents the results of studies of the composition of low molecular weight metabolites identified by gas chromatography-mass spectrometry, in the leaves of *Cerasus avium* L. Chermashnaya varieties grafted on different rootstocks (Izmaylovskiy, Moskoviya, Stepnoy rodnik, VZ-13, VSL-2, V-5-88, AVCH-2). 23 connections were identified. It was found that the accumulation of alcohol-soluble substances in the leaves depends on the stock/scion combination.

Keywords: *Cerasus avium* L., leaf, metabolomics, stock/scion combinations.

Введение

Современные приборно-аналитические методы расширяют возможности по выявлению особенностей взаимного влияния подвоя на привой и способствует более четкому пониманию механизмов адаптации растений. Метаболомика – одно из направлений системной биологии – позволяет изучить состав низкомолекулярных соединений, образующихся в результате совокупности метаболических процессов в организме. Имеются сведения о результатах исследований применения метаболомики для оценки резистентности растений к патогенам и поиска биомаркеров устойчивости [1], влияния засухи и осмотического стресса на растения [2], выяснения биохимических механизмов устойчивости к насекомым-вредителям [3]. Обзор литературы показывает, что метаболомное профилирование становится важной частью фундаментальных исследований для выявления механизмов формирования устойчивости к неблагоприятным биотическим и абиотическим факторам. Большинство данных получено при изучении метаболома различных вегетативных органов растений. Исследований

по метаболомному анализу листового аппарата привойно-подвойных комбинаций крайне мало [4].

Цель наших исследований – выявить с помощью метаболомного подхода изменения синтеза метаболитов в листьях черешни под влиянием подвоя.

Материалы и методы исследований

Исследования проведены в 2016-2017 гг. в лаборатории биохимии ФГБНУ ВСТИСП. Объектами исследований были листья черешни сорта Чермашная, привитого на семи клоновых подвоях (Измайловский, Московия, Степной родник, ВЦ-13, ВСЛ-2, В-5-88, АВЧ-2). Образцы листьев отбирались со средней части побега у 10 деревьев каждой комбинации (возраст деревьев – 8-9 лет) в соответствии с методикой [5]. Масса исследуемой навески составляла 50 г. Среднюю навеску листьев гомогенизировали и экстрагировали метанолом, экстракт фильтровали, аликвоту (600 мкл) выпаривали досуха при 80 °С. Для определения веществ проводили дериватизацию с использованием силилирующего агента N,O-бис(триметилсилил) трифторацетамида (БСТФА) [6]. Качественный анализ метаболитов выполняли методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ/МС) на хроматографе JMS-Q1050GC («JEOL Ltd», Япония). Использовали капиллярную колонку DB-5HT («Agilent», США; длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина пленки 0,52 мкм; газ-носитель – гелий). Температурный градиент – от 40 до 300 °С, температура инжектора и интерфейса – 280 °С, ионного источника – 200 °С. Скорость потока газа в колонке – 2,0 мл/мин, время анализа – 45 мин, режим ввода с делением потока, объем вводимой пробы – 1 мкл. Идентификацию веществ осуществляли по параметрам удерживания и масс-спектрам библиотеки NIST-5 National Institute of Standards and Technology (США). Диапазон сканирования – 33-900 m/z.

Результаты и их обсуждение

В результате изучения компонентного состава спиртового экстракта листьев семи привойно-подвойных комбинаций черешни идентифицировано 23 соединения, из них 8 органических кислот, 2 вещества из группы фенольных соединений, 4 сахарных спирта, 8 сахаров, аминокислота аланин (табл. 1).

Аскорбиновая, изолимонная, глюконовая, хлорогеновая кислоты и рибоза обнаружены в листьях всех комбинаций. Наличие гликолевой, яблочной, фталевой, эритровой кислот зависит от подвойно-привойной комбинации. В листьях всех образцов обнаружена аминокислота л-аланин. Фитиновая кислота (мио-инозитол), участвующая в процессах внутриклеточного обмена кальция обнаружена в листьях комбинаций Чермашная /Вц-13, Чермашная/ АВЧ-2 и Чермашная/Московия.

Таблица 1.

Компонентный состав спиртового экстракта листьев черешни сорта Чермашная на разных подвоях

№	Название	Наличие в привойно-подвойной комбинации
Органические кислоты		
1	Аскорбиновая кислота	Содержится в листьях всех комбинаций
2	Гликолевая кислота	Чермашная/Московия Чермашная/Степной родник
3	Глюконовая кислота	Содержится в листьях всех комбинаций
4	Эритровая кислота	Чермашная/ВЦ-13 Чермашная/АВЧ-2
5	Изолимонная кислота	Содержится в листьях всех комбинаций
6	Яблочная кислота	Чермашная/ВЦ-13 Чермашная/ВСЛ-2
7	Янтарная кислота	Чермашная /ВЦ-13
8	Фталевая кислота	Чермашная/ВСЛ-2 Чермашная/Московия Чермашная/Степной родник
Фенольные соединения		
9	Хлорогеновая кислота	Содержится в листьях всех комбинаций
10	Фумаровая кислота	Чермашная/ВЦ-13
Аминокислоты		
11	Аланин	Чермашная/ВЦ-13 Чермашная/АВЧ-2 Чермашная/ВСЛ-2 Чермашная/Степной родник Чермашная/В-5-88
Спирты		
12	Мио-инозитол (фитиновая кислота)	Чермашная/ВЦ-13 Чермашная/АВЧ-2 Чермашная/Московия
13	Сорбитол	Чермашная/ВЦ-13 Чермашная/АВЧ-2 Чермашная/Московия Чермашная/Степной родник Чермашная/В-5-88
14	Дульцитол	
15	Маннитол	
Сахара		
16	Ксилоза	Чермашная/ВЦ-13 Чермашная/АВЧ-2 Чермашная/Московия Чермашная/Степной родник Чермашная/В-5-88

Продолжение табл. 1

№	Название	Наличие в привойно-подвойной комбинации
17	Левоглюкосан	Чермашная/ВЦ-13
18	Арабиноза	Чермашная/ВЦ-13 Чермашная/АВЧ-2 Чермашная/Московия Чермашная/Степной родник Чермашная/В-5-88
19	Рибоза	Содержится во всех образцах
20	Тагатоza	Чермашная /ВЦ-13 Чермашная/Степной родник Чермашная/Московия
21	D-(-)-Тагатофураноза	Чермашная /ВЦ-13 Чермашная/Степной родник Чермашная/Московия Чермашная/Измайловский
22	D-(-)-Фруктофураноза	Чермашная/ВЦ-13 Чермашная/Степной родник
23	D-(+)-Талофураноза	Чермашная/ВЦ-13 Чермашная/Степной родник Чермашная/Московия

Аскорбиновая, гликолиевая, фумаровая, яблочная, янтарная, изолимонная, хлорогеновая, фумаровая, фталевая, фитиновая кислоты обладают выраженным антиоксидантным действием. Фитиновая кислота также является антиоксидантом, участвует в регуляции уровня внутриклеточного кальция. Спирты сорбитол, дульцитол, маннитол являются продуктами углеводного обмена.

Помимо общих для всех комбинаций соединений выявлены особенности синтеза метаболитов в зависимости от подвоя (табл. 2).

Таблица 2.

Количественный состав метаболитов в листьях привойно-подвойных комбинаций

Привойно-подвойная комбинация	Количество метаболитов
Чермашная/Московия	9
Чермашная/Степной родник	10
Чермашная/ВЦ - 13	12
Чермашная/В-5-88	3
Чермашная/АВЧ-2	6
Чермашная/Измайловский	6
Чермашная/ВСЛ-2	3

Выводы

Таким образом, проведенные исследования позволили выявить, что синтез спирторастворимых веществ, накапливающихся в листьях черешни, существенно зависел от привойно-подвойной комбинации. Наиболее разнообразный биохимический состав обеспечивала прививка черешни на клоновые подвой Москвия, Степной родник и ВЦ-13. Наименьшее количество метаболитов было обнаружено при прививке на клоновых подвоях ВСЛ-2 и В-5-88.

Список использованной литературы

1. Evers D., Lefevre I., Legay S., Lamoureux D., Hausman J., Rosales R. O., Marca L. R., Hoffmann L., Bonierbale M., Schafleitner R. Identification of drought-responsive compounds in potato through a combined transcriptomic and targeted metabolite approach // J. Exp. Bot., 2010. – 61(9). – P. 2327-2343 (doi: 10.1093/jxb/erq060).
2. Tomita S., Ikeda S., Tsuda S., Someya N., Asano K., Kikuchi J., Chikayama E., Ono H., Sekiyama Y. A survey of metabolic changes in potato leaves by NMR-based metabolic profiling in relation to resistance to late blight disease under field conditions // Magn. Reson. Chem., 2017. – 55(2). – P. 120-127 (doi: 10.1002/mrc.4506).
3. Sabotič J., Smid I., Gruden K., Gašparič M. B., Koruza K., Petek M., Pohleven J., Brzin J., Janko K., Zel J. Inhibition of the growth of Colorado potato beetle larvae by macrocyclic peptides, protease inhibitors from the parasol mushroom // J. Agric. Food Chem., 2013. – 61(51). – P. 12499-12509 (doi: 10.1021/jf403615f).
4. Упадышева Г. Ю., Мотылёва С. М., Мертвищева М. Е. Исследование антиоксидантной активности у черешни при выращивании на клоновых подвоях // Материалы XII Междун. научн. конф. «Агроэкологические аспекты устойчивого развития АПК», Брянск, 2016. – С. 277-280.
5. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур. – Орёл: ВНИИСПК, 1999. – 608 с.
6. Robbins R. J. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology // Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003. – № 51. – P. 2866-2887 (doi: 10.1021/jf026182t).

S. M. Motyleva, G. Yu. Upadysheva
FSBSI ARHIBAN, Moscow, Russia

METABOLOME APPROACH IN THE STUDY OF THE INFLUENCE OF ROOTSTOCK ON THE BIOCHEMICAL STATUS OF SCION (BY THE EXAMPLE OF *CERASUS AVIUM* L.)