

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ВЕЩЕСТВ ВТОРИЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА В ЛИСТЬЯХ ДЕРЕВЬЕВ ЯСЕНЯ ОБЫКНОВЕННОГО И ИХ МИКРОКЛОНОВ, ПОЛУЧЕННЫХ *IN VITRO*

© 2022 М. Ю. Сауткина

*Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии (Воронеж, Россия)*

*В статье представлены результаты оценки биохимического разнообразия листьев исходных деревьев ясеня обыкновенного и их микроклонов, полученных в культуре *in vitro*. Установлено, что количественно ведущей группой веществ вторичного метаболизма в листьях деревьев ясеня обыкновенного и их микроклонов являются флавонолы. Результаты физиолого-биохимического анализа растительных образцов исходных деревьев и их микроклонов на определение групп веществ вторичного метаболизма могут быть использованы для оптимизации отбора материала для размножения *in vitro* за счет выявления определенных взаимосвязей между уровнями накопления этих веществ, а также устойчивости к патогенам и вредителям.*

*Ключевые слова: фенольные соединения, вторичный метаболизм, ясень обыкновенный, микроклоны, флавонолы, низкомолекулярные катехины, конденсированные танины.*

Фенольные соединения являются обширным классом веществ вторичного метаболизма растений. Они участвуют в процессах фотосинтеза, роста, дыхания, а также в формировании защитных механизмов при адаптации к воздействию внешних стрессовых факторов, таких как УФ-Б радиация, вредители и патогены. Уровень накопления фенольных соединений может служить критерием потенциальной устойчивости растений к стрессовым факторам среды [1]. Так, например, оценку качества лесных культур проводят по интенсивности роста растений. Однако данный критерий не отражает изменчивость адаптивных признаков, обеспечивающих потенциальную устойчивость к абиотическим и биотическим факторам. В связи с этим, в качестве адаптивных признаков в настоящее время изучаются особенности вторичного метаболизма веществ [2]. Биосинтез фенольных соединений зависит от генотипических особенностей растений, а также от многих факторов окружающей среды, таких как температура, УФ-излучение и минеральное питание.

Установлено, что уровень накопления фенольных соединений может изменяться в онтогенезе в пределах одного растения и одного органа [3]. Предварительный анализ листьев исходного материала дуба черешчатого, используемого для микроклонирования, на содержание некоторых групп веществ вторичного метаболизма показал возможность оптимизации отбора материала для размножения *in vitro* за счет выявления определенных взаимосвязей между ростовыми и биохимическими характеристиками, а также устойчивости к патогенам [4, 5, 6].

Цель исследований – изучение особенностей биохимического разнообразия фенольного комплекса листьев деревьев ясеня обыкновенного и их микроклонов, полученных в культуре *in vitro*.

**Результаты исследований.** Физиолого-биохимический анализ позволил установить различия в уровне синтеза веществ вторичного метаболизма как в листьях 4 исходных деревьев ясеня обыкновенного, так и 6 микрорастений, полученных *in vitro*. Для анализа

---

Сауткина Марина Юрьевна – ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии», научный сотрудник отдела лесной генетики и биотехнологии лаборатории

экологической генетики, канд. с.-х. наук, e-mail: [sautmar@mail.ru](mailto:sautmar@mail.ru).

отобранный растительный материал фиксировали в течение в кипящем 96 %-ном этаноле. Содержание флавонолов определяли по реакции с  $AlCl_3$  [7]; низкомолекулярные катехины и конденсированные танины – по реакции с ванилиновым реактивом [8]; связанную форму проантоцианидинов – по методу [9]; общее содержание фенольных соединений (ФС) – с использованием реактива Фолина-Дениса. Разницу между ФС и КТ рассматривали как сумму гидролизуемых танинов (ГТ).

Нами было изучено накопление соединений фенольной природы (суммы растворимых фенольных соединений (ФС)) в растительных тканях анализируемых образцов.

По материалам анализа установлено, что среднее содержание ФС в образцах исходных деревьев ясеня составляет  $2.05 \pm 0.21$  % сухой массы (с.м.) при варьиро-

вании по отдельным особям в диапазоне значений от 1.00 % с.м. (д.№Л) до 3.61 % с.м. (д.№ 2). В образцах микроклонов ясеня обнаружено в среднем на 27.3 % меньше ФС. Диапазон изменчивости данного признака у микроклонов изменяется в пределах от 1.00 % с.м. (д.№1 *in vitro*) до 2.36 % с.м. (д.№ 9 *in vitro*).

Нами показано, что количественно ведущей группой веществ вторичного метаболизма в листьях деревьев ясеня обыкновенного и их микроклонов являются флавонолы. В целом для исходных деревьев характерно на 34 % более высокое содержание ФЛ, чем для их микроклонов. Максимальное содержание данной группы веществ фенилпропаноидной структуры обнаружено в образцах листьев дерева ясеня № М – 4.85 % с.м. Среди микрорастений максимальным уровнем накопления ФЛ обладает микроклон дерева ясеня № 2 – 2.98 % с.м. (табл.).

Таблица

Содержание фенольных соединений в листьях исходных деревьев и микрорастений ясеня обыкновенного, % сухой массы

№ дерева	НК, % с. м.	КТ, % с. м.	ГТ, % с. м.	ФС, % с. м.	ФЛ, % с. м.	ПА, % сухой массы
1	0.42	0.42	1.23	1.65	2.32	0.47
2	0.83	0.56	3.05	3.61	3.38	0.56
Л	0.42	0.83	0.17	1.00	3.05	1.32
М	1.92	0.83	1.13	1.96	4.85	1.62
Среднее	$0.90 \pm 0.10$	$0.66 \pm 0.09$	$1.40 \pm 0.21$	$2.05 \pm 0.21$	$3.40 \pm 0.33$	$0.91 \pm 0.18$
1 <i>in vitro</i>	0.97	0.97	0.003	1.00	1.85	0.55
2 <i>in vitro</i>	1.38	0.29	0.92	1.21	2.98	0.87
7 <i>in vitro</i>	1.24	0.97	0.27	1.24	1.44	0.93
9 <i>in vitro</i>	1.92	0.42	1.94	2.36	2.58	1.49
Л <i>in vitro</i>	2.74	0.42	1.15	1.57	2.03	1.56
М <i>in vitro</i>	1.38	0.42	1.15	1.57	2.58	1.66
Среднее	$1.60 \pm 0.26$	$0.58 \pm 0.10$	$0.91 \pm 0.18$	$1.49 \pm 0.19$	$2.24 \pm 0.23$	$1.18 \pm 0.18$

Примечание – НК низкомолекулярные катехины; КТ конденсированные танины; ГТ гидролизуемые танины; ФС общее содержание фенольных соединений; ФЛ флавонолы.

Детальный физиолого-биохимический анализ показал наличие в образцах листьев деревьев ясеня обыкновенного и их микроклонов гидролизуемых танинов (ГТ). При этом их количество в вегетативной сфере исходных деревьев ясеня в 3 раза меньше, чем

в листьях исходных деревьев дуба и составляет в среднем  $1.40 \pm 0.21$  % с.м., а растительных образцах микроклонов ясеня на 40 % меньше, чем в образцах микроклонов дуба. Следует отметить, что при полевой оценке выявлено, что в исходных растениях ясеня содержится на 35 % большее количество ГТ, чем в микроклонах. Максимальный уровень ГТ отмечен в образцах исходного дерева № 2 – 3.05 % с.м. (табл.).

В результате анализа показано, что уровень накопления конденсированных танинов (КТ) в листьях исходных деревьев ясеня в целом соответствует их уровню в микрорастениях:  $0.661 \pm 0.098$  % с.м (исходные деревья) и  $0.582 \pm 0.101$  % с.м. (*in vitro*) (табл.).

Среднее содержание низкомолекулярных катехинов (НК) в тканях исходных деревьев ясеня составляет  $0.90 \pm 0.10$  % с.м., а в образцах микроклонов на 78 % выше –  $1.60 \pm 0.26$  % с.м. Максимальным уровнем накопления НК среди микрорастений обладает д.№Л *in vitro* – 2.74 % с.м., что в 6.5 раз выше, чем в исходном дереве. В случае с содержанием ПА выявлена тенденция, аналогичная содержанию НК. Так, в листьях исходных деревьев ясеня в среднем содержится  $0.906 \pm 0.183$  % с.м., а в тканях микроклонов – на 23 % выше – 1.177 % с.м. (табл.).

Таким образом, показано значительное биохимическое разнообразие исходных деревьев ясеня обыкновенного и их микроклонов. Результаты физиолого-биохимического анализа растительных образцов исходных деревьев и их микрорастений, полученных *in vitro*, на определение групп веществ вторичного метаболизма могут быть использованы для оптимизации отбора материала для размножения *in vitro* за счет выявления определенных взаимосвязей между уровнями накопления этих веществ, а также устойчивости к патогенам и вредителям. Содержание веществ вторичного обмена может служить индикатором потенциальной устойчивости деревьев к внешнему прессингу различных абиотических и биотических стрессовых факторов. Так, например, уровень накопления флавонолов и проантоцианидинов может служить генетическим маркером анализируемых деревьев, который указывает на потенциальную устойчивость в условиях средового стресса. Установлено, что на основе детального физиолого-биохимического анализа наиболее потенциально устойчивыми исходными для размножения *in vitro* деревьями являются все исследуемые деревья дуба черешчатого и деревья ясеня обыкновенного № 2, Л и М. Тенденция повышенного содержания определенных групп веществ вторичного метаболизма сохраняется и для их

микроклонов, что также демонстрирует их потенциальную повышенную устойчивость к воздействию негативных факторов среды.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Киракосян Р. Н. Уровень фенольных соединений в растениях-регенерантах капусты белокачанной / Р. Н. Киракосян, Е. А. Калашникова // Сборник материалов Международной научной конференции молодых ученых и специалистов, посвященной 150-летию РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева. – Москва, 2015. – С. 36-37.

2. Полякова Л. В. Повышение устойчивости лесозащитных полос с участием сосны обыкновенной на основе изучения особенностей метаболизма веществ вторичного обмена / Л. В. Полякова, Н. Ф. Кузнецова // Бюллетень ГНБС. – 2020. – Вып. 136. – С. 140-147.

3. Francisco M. Simultaneous identification of glucosinolates and phenolic compounds in a representative collection of vegetable Brassica rapa / M. Francisco, D. A. Moreno, M. E. Cartea, F. Ferreres, C. Garcia-Viguera, M. E. Cartea // J. Chromatogr. – 2009. – Vol. 1216. – P. 6611-6619.

4. Полякова Л. В. Биохимическое разнообразие полусибсового потомства деревьев дуба черешчатого как источник отбора генотипов для микроклонирования / Л. В. Полякова, В. И. Литвиненко // Бюллетень ГНБС. – 2016. – Вып. 121. – С. 24-32.

5. Полякова Л. В. Биохимическая характеристика семян дуба черешчатого, используемых для размножения *in vitro* / Л. В. Полякова, Е. А. Губин // Фактори експериментальної еволюції організмів: сб. науч. тр. – К.: Логос, 2008. – Т. 5 – С. 314-317.

6. Полякова Л. В. Роль фенольных соединений в устойчивости географических культур сосны обыкновенной / Л. В. Полякова, П. Т. Журова // Лесоведение. – 2012. – № 1. – С. 27-33.

7. Беликов В. В. Оценка содержания флавонол-производных в плодах *Silybum marianum* L. / В. В. Беликов // Растительные ресурсы. – 1985. – Вып. 3. – С. 350-358.

8. Julkunen-Tiitto R. Phenolic constituents in leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics / R. Julkunen-Tiitto // J. Agric. Food Chem. – 1985. – Vol.33. P.213-217.

9. Полякова Г. Г. Участие проантоцианидинов и лигнина в защитной реакции пихты на инфицирование микромицетами /

Г. Г. Полякова, В. П. Ветрова, Н. В. Пашенова, В.И. Осипов // Физиология растений. – 1995. – Вып.42. – С.622-628.

**COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE CONTENT OF SECONDARY METABOLISM SUBSTANCES IN THE LEAVES OF COMMON ASH TREES AND THEIR MICROCLONES OBTAINED IN VITRO**

© 2022 M. Yu. Sautkina

*All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology (Voronezh, Russia)*

*The article presents the results of assessing the biochemical diversity of the leaves of the original ash trees and their microclones obtained in vitro culture. It has been established that the quantitatively leading group of substances of secondary metabolism in the leaves of common ash trees and their microclones are flavonols. The results of the physiological and biochemical analysis of plant samples of source trees and their microclones to determine groups of substances of secondary metabolism can be used to optimize the selection of material for reproduction in vitro by identifying certain relationships between the levels of accumulation of these substances, as well as resistance to pathogens and pests.*

*Keywords: phenolic compounds, secondary metabolism, common ash, microclones, flavonols, low molecular weight catechins, condensed tannins.*