

СООБЩЕНИЯ

ДИНАМИКА МЕТАБОЛОМА ЛИСТЬЕВ РАСТЕНИЙ РОДА *EUPHORBIA*
(EUPHORBIACEAE) ПРИ СМЕНЕ ФЕНОЛОГИЧЕСКИХ ФАЗ

© 2019 г. К. В. Сазанова^{1,*}, Е. Р. Котлова¹, Р. К. Пузанский^{1,2}, Н. А. Медведева¹,
М. А. Виноградская¹, Н. В. Петрова¹, Н. И. Павлова¹, Д. В. Гельтман¹, А. Л. Шаварда^{1,2}

¹ Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН
ул. Проф. Попова, 2, 197376, г. Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет
Университетская наб., 7/9, 199034, г. Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: Ksazanova@binran.ru

Поступила в редакцию 01.04.2019 г.

После доработки 18.04.2019 г.

Принята к публикации 16.05.2019 г.

Выполнен анализ динамических изменений метаболома растений рода *Euphorbia* (*E. palustris* и *E. squamosa*) из секции *Helioscopia*. Хромато-масс-спектрометрический анализ с последующей математической обработкой метаболитной матрицы методами мультивариантной статистики позволяет выявить значительную часть метаболомных изменений, происходящих в процессе смены фенологических фаз развития. Кластеризация метаболомов листа в соответствии со стадией жизненного цикла показывает, что отдельно взятый вегетативный орган растения может отражать системные изменения метаболома организма. Для этапов вегетации описан циклический тренд распределения точек, характеризующих биохимическое состояние объекта в определенный момент времени. Межвидовые метаболомные различия растений проявляются по-разному в зависимости от стадии развития.

Ключевые слова: метаболомика, фенологические фазы, онтогенез, молочай, метод главных компонент

DOI: 10.1134/S0006813619060127

Процесс развития растения можно разделить на несколько этапов на основе морфологических показателей, отражающих функциональную значимость растений в конкретный период времени. Число и продолжительность возрастных стадий могут варьировать в зависимости от вида, жизненных форм и условий среды (Komarov et al., 2003). Этапы развития растения сопряжены с дифференциальной экспрессией генов, определяющей функциональную активность протеома на разных стадиях онтогенеза (Cao et al., 2011). При этом для протекания онтогенетических процессов не менее важную роль играет взаимопревращение малых биомолекул, составляющих так называемую метаболитную сеть. Хорошо известно, что переход от одной стадии развития или фенологической фазы к другой у растений сопряжен с рядом изменений в качественном и количественном составе метаболитов и их соотношении, хотя динамические колебания многих соединений происходят и на протяжении одной стадии развития (Batygin, 1995).

В настоящее время все большее значение в физиологических исследованиях приобретает методический подход, основанный на максимально полном описании спектра метаболитов объекта в конкретный момент времени. Для реализации данного подхода

требуется анализ сложных смесей, выполняемый с помощью таких методов как ЯМР (ядерный магнитный резонанс), ГХ-МС (газовая хроматография-масс-спектрометрия), ЖХ-МС (жидкостная хроматография-масс-спектрометрия), КЭ-МС (капиллярный электрофорез-масс-спектрометрия) (Okazaki et al., 2012; Khakimov et al., 2014). Результаты исследований в области метаболомики растений во многом зависят от инструментального подхода, детекции, методов количественной оценки и локализации метаболитов (Hegeman et al., 2010). Метаболомика растений стала мощным инструментом для изучения различных аспектов физиологии растений и общебиологических проблем, позволяющих значительно расширить представления о метаболических и молекулярных механизмах, регулирующих рост и развитие растений, реакцию на стресс, диагностику патологических изменений, а также улучшение продуктивности и качества сельскохозяйственных культур (Muhlemann et al., 2012; Hong et al., 2016).

Недавние исследования свидетельствуют об успешном применении метаболомного подхода для исследования изменений, происходящих в ходе онтогенеза растений. Анализ пространственно-временной структуры метаболитной сети растений риса выявил потенциальные биомаркеры онтогенетических процессов, среди которых фигурируют трегалоза, манноза, галактоза, лимонная кислота, яблочная кислота, глутаминовая кислоты, фенилаланин, гамма-аминомасляная кислота, лизин, лейцин, шикимовая кислота, янтарная кислота, пироглутаминовая кислота, валин, гидроксibenзойная кислота, тимин, салициловая кислота, щавелевая кислота, трансакотиновая кислота, урацил (Tarpley et al., 2005). В другой работе с применением данного подхода в растениях риса было выявлено изменение в содержании феноламидов в процессе развития (Dong et al., 2015).

В исследовании Song с соавторами (2014) с помощью ЯМР-анализа были исследованы процессы изменения метаболитной сети в онтогенезе сои. Фитохимические различия четко проявляются на каждой неделе развития растений. Авторами было выявлено несколько маркеров разных стадий онтогенеза, принадлежащих к классу флавоноидов, концентрационные изменения которых наблюдались в процессе развития растений (Song et al., 2014).

На растениях *Arabidopsis thaliana* было показано, что старение листьев растения сопровождается снижением концентрации моно- и дигалактозилдиацилглицеринов, а также фосфатидилглицеринов и некоторых минорных липидов хлоропластов. Содержание большинства других липидов, например, ди-, триацилглицеринов, керамидов, глюкозилцерамидов и лизолипидов, а также хинонов (пластохинон и убихинон) непрерывно увеличивалось по мере старения листьев. Также увеличивалась концентрация метаболитов, связанных с обменом моно- и дисахаров. Наряду с увеличением количества сахаров при старении листьев увеличивалась концентрация сахароспиртов (сорбита, эритрита и арабита) и сахарокислот (глюконовая и галактоновая кислоты) (Watanabe et al., 2013).

В данном исследовании предпринята попытка анализа динамических изменений метаболитной сети растений рода молочай (*Euphorbia*) с помощью метода ГХ-МС. Род молочай (*Euphorbia*) является одним из крупнейших родов цветковых растений, причем представители этого рода обладают, как правило, чрезвычайно богатым составом вторичных метаболитов, включая алкалоиды и терпеноидные соединения. Для многих метаболитов растений рода *Euphorbia* показана высокая биологическая активность, что делает их весьма перспективным объектом для целей фармакологии (Pintus et al., 2010; Shavarda, Geltman, 2017). Наши предыдущие результаты показали существенную зависимость метаболомного профиля листьев *Euphorbia palustris* от фенологической фазы развития растения, значительно перекрывающую индивидуальную внутривидовую изменчивость растений, а также морфологические особенности образцов листьев (Kotlova et al., 2018). Тем не менее, остаются неясными общие за-

кономерности и особенности метаболомных изменений различных видов растений рода *Euphorbia*, происходящие при смене фенологических фаз. Также для понимания динамических изменений метаболитной сети необходим более детальный анализ отдельных стадий развития растений.

Цель данной работы состояла в выявлении изменений метаболитного профиля у двух видов рода *Euphorbia* в процессе сезонного развития растений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор материала

В исследовании использованы листья многолетних растений *E. palustris* L. и *E. squamosa* Willd., находящихся на генеративной стадии развития (т.е. обязательно образующих генеративные побеги в год наблюдения). Первый из этих видов был собран в окрестностях поселка Лисий нос, в административных границах Санкт-Петербурга, в месте своего естественного произрастания на севере ареала. *E. squamosa* – кавказский лесной вид, интродуцированный в Ботаническом саду Петра Великого Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН. Сбор материала проводили с апреля по июль, при этом были представлены разные стадии вегетации от начала отрастания побегов до их полного формирования, цветения и плодоношения. В качестве образцов использовали одновозрастные средние стеблевые листья.

Подготовка проб

Пробоподготовку осуществляли в соответствии с общепринятыми современными методиками (Kim, Verpoorte, 2010). Образцы листьев фиксировали в жидком азоте, экстрагировали метанолом и центрифугировали при 4000 g в течение 10 минут. Полученный экстракт выпаривали при 40°C на ротаторном испарителе ИКА, сухой остаток растворяли в пиридине. Далее с использованием N, O-бис-(триметилсилил) трифтороацетамида (BSTFA) (Supelco, США) получали ТМС (триметилсилил) – производные. Силилирование выполняли в течение 15 мин при 100°C.

Анализ проб

Анализ проводили методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) на приборе Agilent с масс-селективным детектором 5975С (США), колонка HP-5MS, 30м X 0.25 мм. Хроматографирование проводили при линейном программировании температуры от 70°C до 320°C. Газ-носитель – гелий. Хроматограммы образцов регистрировали по полному ионному току. Сбор данных осуществляли с помощью программного обеспечения Agilent ChemStation.

Обработка данных

Обработку и интерпретацию масс-спектрометрической информации проводили с использованием программы AMDIS (<http://www.amdis.net>), базы данных NIST 2011 и базы данных масс-спектрометрической информации, созданной в Ботаническом институте им. В.Л. Комарова РАН. Определение индексов удерживания (RI) проводили методом калибровки по стандартным предельным углеводородам. Количественную интерпретацию метаболитного профиля осуществляли по площадям пиков полного ионного тока методом внутреннего стандарта с помощью программы UniChrom (www.unichrom.com). Статистическая обработка результатов была выполнена методами мультивариантной статистики с использованием программ Multibase2015; Origin Pro.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

ГХ-МС анализ экстрактов растений рода *Euphorbia* позволил выявить тенденции изменения метаболитной сети растений в ходе сезонного развития. Полученные данные указывают на общие для обоих видов, а также некоторые видоспецифические особенности изменения метаболомного профиля при смене фенологических фаз.

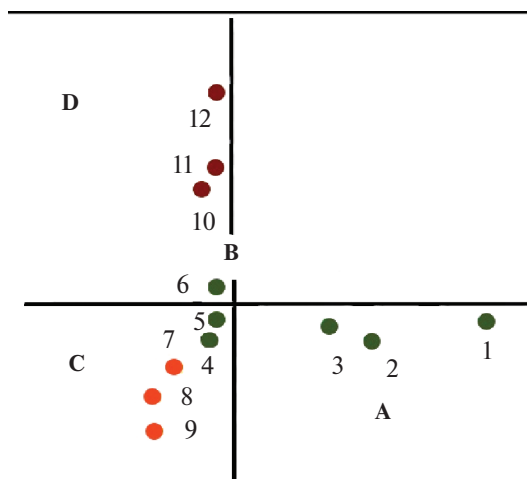


Рис. 1. МГК-анализ метаболитных профилей листьев *Euphorbia palustris* на разных стадиях развития. А – ранняя вегетация, В – поздняя вегетация, С – цветение, D – плодоношение. 1, 2, 3 – вегетация (1), сбор от 22.04.2015; 4, 5, 6 – вегетация (2), сбор от 13.05.2015; 7, 8, 9 – цветение, сбор от 13.06.2015; 10, 11, 12 – плодоношение, сбор от 26.07.2015.

Fig. 1. PCA-analysis of the metabolite profiles of *Euphorbia palustris* leaves at different stages of plant development: A – early vegetation, B – late vegetation, C – flowering, D – fruiting. 1, 2, 3 – vegetation (1), collection 22.04.2015; 4, 5, 6 – vegetation (2), collection 13.05.2015; 7, 8, 9 – flowering, collection 13.06.2015; 10, 11, 12 – fruiting, collection 26.07.2015.

Для интегрального сравнения биохимических состояний растений использовались методы мультивариантной статистики. При обработке массива метаболомных данных методом главных компонент (МГК) была построена статистическая модель развития растений, демонстрирующая группировку образцов в зависимости от фазы развития растения (рис. 1, 2). Каждая точка на рисунке визуализирует один образец растения. МГК-анализ на разных стадиях сезонного развития растений позволил установить, что группировка образцов происходит в зависимости от фенологической фазы. При этом у обоих видов в наибольшей степени обособляется стадия плодоношения. Коэффициенты объясненной дисперсии модели развития *E. palustris* составляют 44.7% (ГК 1) и 22.2% (ГК 2) в пространстве 1 и 2 главных компонент и 42.3% (ГК 1) и 18.6% (ГК 2) для *E. squamosa*.

Листья *E. squamosa*, в отличие от *E. palustris*, были собраны пять раз на стадии вегетации и, таким образом, были представлены пятнадцатью образцами. На рисунке 2 видно, что листья *E. squamosa*, собранные на стадии вегетации (точки 1–15) группируются скученно, при этом четкого распределения точек по времени сбора не визуализируется. Для более детального описания динамических изменений в метаболитной матрице, происходящих на стадии вегетации, был выполнен МГК-анализ метаболомов образцов *E. squamosa* 1–15, исключая листья, собранные с растений на стадиях цветения и плодоношения. Результаты данного анализа показали, что точки, характеризующие метаболомы листьев растений, распределяются последовательно в пространстве главных компонент, формируя тренд, близкий к циклическому (рис. 3). Подобные тренды ранее были описаны при исследовании онтогенетических изменений метаболитной сети растений (*Arabidopsis thaliana* и *Syringa vulgaris*) и грибов (*Flammulina velutipes* и *Lignomyces vetlinianus*) (Shavarda et al., 2016).

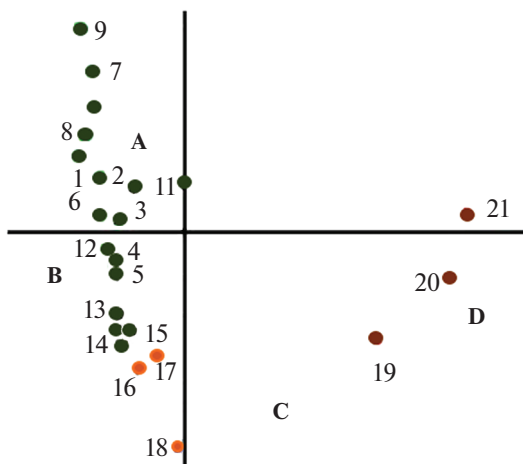


Рис. 2. МГК-анализ метаболитных профилей листьев *Euphorbia squamosa* на разных стадиях развития. А – ранняя вегетация, В – поздняя вегетация, С – цветение, D – плодоношение. 1, 2, 3 – вегетация (1), сбор от 15.04.2015; 4, 5, 6 – вегетация (2), сбор от 21.04.2015; 7, 8, 9 – вегетация (3), сбор от 27.04.2015; 10, 11, 12 – вегетация (4), сбор от 05.05.2015; 13, 14, 15 – вегетация (5), сбор от 14.05.2015; 16, 17, 18 – цветение, сбор от 03.06.2015; 19, 20, 21 – плодоношение, сбор от 24.06.2015.

Fig. 2. PCA-analysis of the metabolite profiles of *Euphorbia squamosa* leaves at different stages of plant development: А – early vegetation, В – late vegetation, С – flowering, D – fruiting. 1, 2, 3 – vegetation (1), collection 15.04.2015; 4, 5, 6 – vegetation (2), collection 21.04.2015; 7, 8, 9 – vegetation (3), collection 27.04.2015; 10, 11, 12 – vegetation (4), collection 05.05.2015; 13, 14, 15 – vegetation (5), collection from 14.05.2015; 16, 17, 18 – flowering, collection from 03.06.2015; 19, 20, 21 – fruiting, collection 24.06.2015.

При одновременном МГК-анализе метаболомов *E. squamosa* и *E. palustris* видно, что межвидовые различия листьев растений проявляются по-разному в зависимости от стадии развития растения (рис. 4). Соответственно применение метаболомного подхода для межвидового сравнения и целей систематики должно проводиться с учетом динамических изменений в метаболоме в процессе развития.

Динамические изменения метаболома обоих видов растений проявлялись главным образом в концентрационных изменениях ряда метаболитов (рис 5, 6). У *E. palustris* наиболее высокие концентрации моносахаров регистрируются в период ранней вегетации растений и в дальнейшем снижаются. У *E. squamosa* высокие концентрации моносахаров наблюдались на стадии плодоношения, но также и в процессе вегетации. У обоих видов арабитол накапливался в листьях только на стадиях цветения и плодоношения. Некоторые соединения (неохлорогеновая кислота у обоих видов, криптохлорогеновая кислота, метиленициклоартенол у *E. squamosa*, ряд неидентифицированных соединений) накапливались преимущественно в стадии плодоношения. Для фазы цветения обоих видов было характерно увеличение концентрации кампостерина и некоторых терпеновых соединений (циклоартенол и метиленициклоартенол у *E. squamosa*; люпеол у *E. palustris*).

Полученные результаты показывают, что ГХ-МС анализ с последующей обработкой метаболитной матрицы методами мультивариантной статистики позволяет выявить значительную часть метаболомных изменений, происходящих в процессе развития растения и вносит вклад в понимание системного поведения малых молекул в составе биологического объекта. Кластеризация метаболомов листа в соответствии с

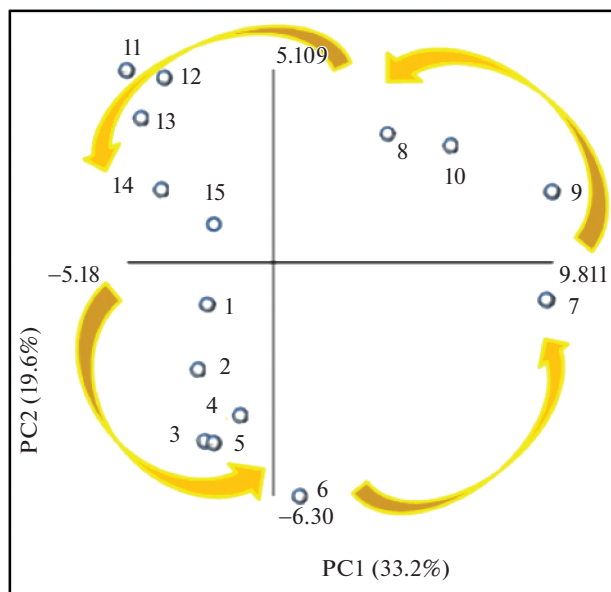


Рис. 3. МГК-анализ метаболома листьев *Euphorbia squamosa* на разных стадиях вегетации. 1, 2, 3 – вегетация (1), сбор от 15.04.2015; 4, 5, 6 – вегетация (2), сбор от 21.04.2015; 7, 8, 9 – вегетация (3), сбор от 27.04.2015; 10, 11, 12 – вегетация (4), сбор от 05.05.2015; 13, 14, 15 – вегетация (5), сбор от 14.05.2015.

Fig. 3. PCA-analysis of the metabolome of *Euphorbia squamosa* leaves at different stages of the vegetation. 1, 2, 3 – vegetation (1), collection 15.04.2015; 4, 5, 6 – vegetation (2), collection 21.04.2015; 7, 8, 9 – vegetation (3), collection 27.04.2015; 10, 11, 12 – vegetation (4), collection 05.05.2015; 13, 14, 15 – vegetation (5), collection 14.05.2015.

фенологической фазой развития растения показывает, что отдельно взятый вегетативный орган растения может отражать системные изменения метаболома всего организма.

Сезонные изменения растений непосредственно связаны с изменением содержания отдельных метаболитов. Накопление некоторых из них характерно только для определенной фенологической фазы развития. Для других соединений свойственны концентрационные изменения в процессе развития. При этом увеличение и уменьшение их концентраций часто носит волнообразный характер, т.е. наблюдается несколько раз за вегетационный период. Сочетание этих изменений приводит к изменению структуры метаболитной сети. Таким образом визуализированные динамические изменения метаболитной матрицы растений обусловлены в основном не набором биомаркеров определенной фазы развития, а, скорее всего, являются проявлением ее корреляционной структуры. Экспериментальные данные во многом согласуются с литературными, полученными на других растениях. В частности, как и в исследовании, проведенном на *Arabidopsis thaliana* (Watanabe et al., 2013) на поздних стадиях развития растений увеличивались концентрации сахароспиртов, а у *E. squamosa* также сахарокислот и дисахаров. Также, как и в растениях риса (Targley et al., 2005) концентрации яблочной, янтарной и шикимовой кислот существенно различались в разные фазы развития у обоих видов молочая.

В настоящее время в системной биологии развиваются подходы к моделированию поведения биологических систем, состоящих из большого числа взаимодействующих переменных, динамика которых определяется многочисленными линейными или нелинейными соотношениями (Zhang et al., 2014). Метод на основе нелинейного анализа временных рядов, обеспечивает глобальный взгляд на динамику биологических си-

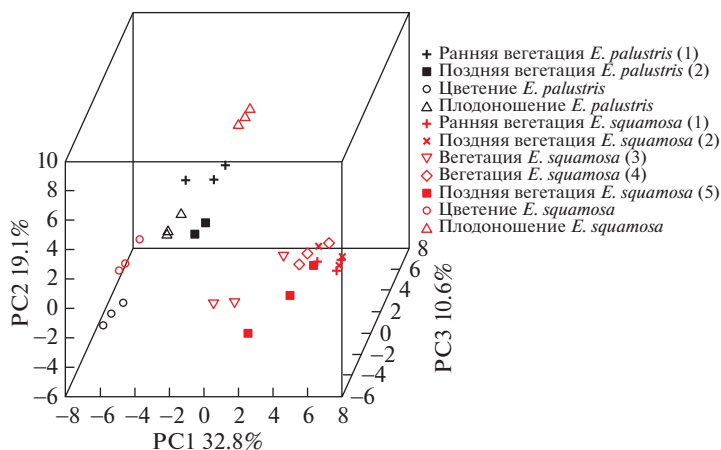


Рис. 4. Сравнительный МГК-анализ метаболитных профилей листьев *Euphorbia squamosa* и *E. palustris* на разных стадиях развития растений. Вегетация (1): *E. palustris* – сбор от 22.04.2015, *E. squamosa* – сбор от 15.04.2015; вегетация (2): *E. squamosa* – сбор от 21.04.2015; *E. palustris* – сбор от 13.05.2015; вегетация (3): *E. squamosa* – сбор от 27.04.2015; вегетация (4): *E. squamosa* – сбор от 05.05.2015; вегетация (5): *E. squamosa* – сбор от 14.05.2015.

Fig. 4. Comparative PCA-analysis of the metabolite profiles of *Euphorbia squamosa* and *E. palustris* leaves at different stages of plant development. Vegetation (1): *E. palustris*, collection 22.04.2015, *E. squamosa*, collection 15.04.2015; vegetation (2): *E. squamosa*, collection 21.04.2015, *E. palustris*, collection 13.05.2015; vegetation (3): *E. squamosa*, collection 27.04.2015; vegetation (4): *E. squamosa*, collection 05.05.2015; vegetation (5): *E. squamosa*, collection 14.05.2015.

стем. Точка в многомерном пространстве представляет состояние системы с n -набором переменных. Временные изменения системы, сформированные множеством точек, сходятся к конкретным областям пространства, называемым аттракторами. Важность данного подхода заключается в обеспечении глобального взгляда на динамику биологического объекта, экспериментальное исследование которого выполняется с использованием “-омных” подходов и предполагает временной фактор. Например, моделирование биологических систем с использованием данного подхода было выполнено для описания экспрессии генов в онтогенезе дрозофилы (Grigogov, 2006). Тем не менее, подобная визуализация поведения элементов биологических систем в настоящее время очень ограничена.

В выполненной работе была построена модель поведения системы малых молекул в составе биологического объекта средствами математической обработки многомерного массива аналитических данных, полученных в результате метаболомного анализа. В целом, закономерности изменения биохимических состояний сходны для обоих видов растений. Для нескольких этапов вегетации *E. squamosa* описан циклический тренд распределения точек, характеризующих биохимическое состояние объекта в определенный момент времени. Полученные данные позволяют полагать, что динамические изменения метаболома обусловлены в основном не конкретными соединениями, а изменением структуры метаболитной матрицы. Кроме того, с применением метаболомного подхода было выявлено, что межвидовые различия листьев *E. squamosa* и *E. palustris* проявляются по-разному в зависимости от стадии развития растения.

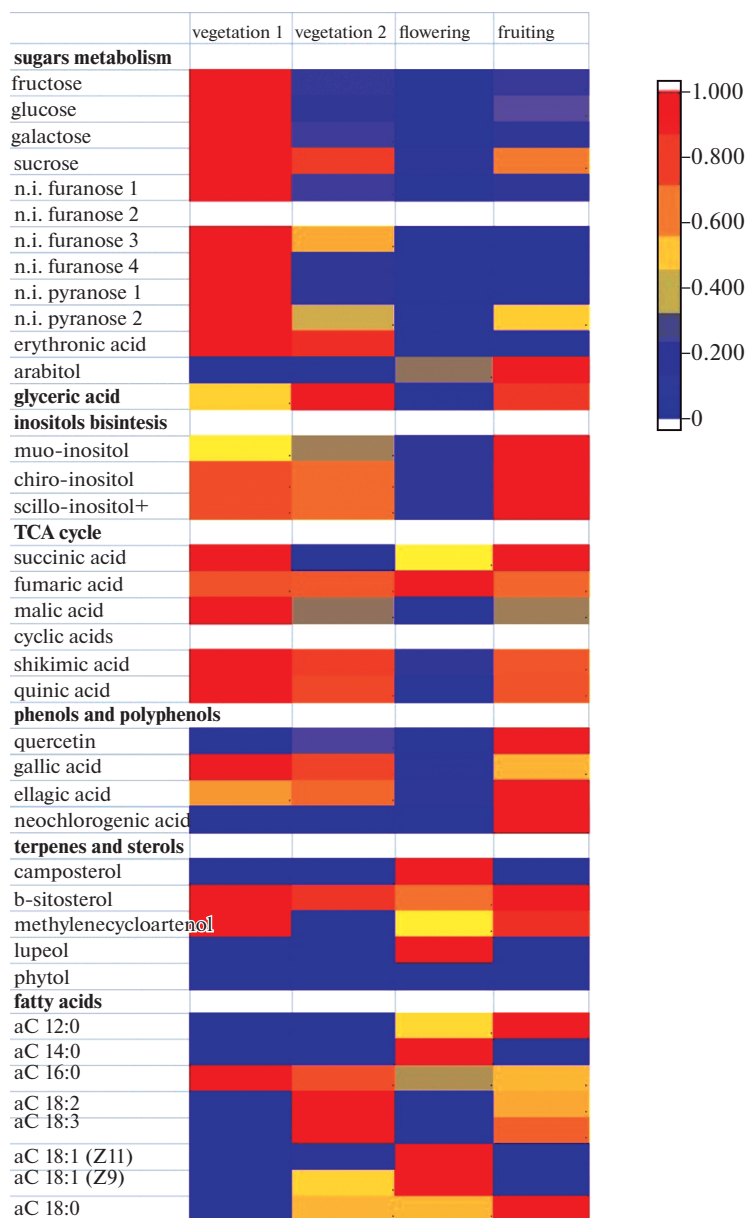


Рис. 5. Тепловая карта содержания соединений основных классов (средние значения для трех повторностей) в листьях *Euphorbia palustris* на разных стадиях развития растений. Вегетация 1 (vegetation 1) – сбор от 22.04.2015; вегетация 2 (vegetation 2) – сбор 13.05.2015; цветение (flowering) – сбор от 13.06.2015; плодоношение (fruiting) – сбор от 26.07.2015. Максимальная концентрация принята за 1. n.i. – неидентифицированные соединения.

Fig. 5. Heat map of the content of compounds of the main classes (average values for three replications) in the leaves of *Euphorbia palustris* at different stages of plant development. Vegetation 1 – collection 22.04.2015; vegetation 2 – collection 13.05.2015; flowering – collection 13.06.2015; fruiting – collection 26.07.2015. The maximum concentration is taken as 1. n.i. – unidentified compounds.

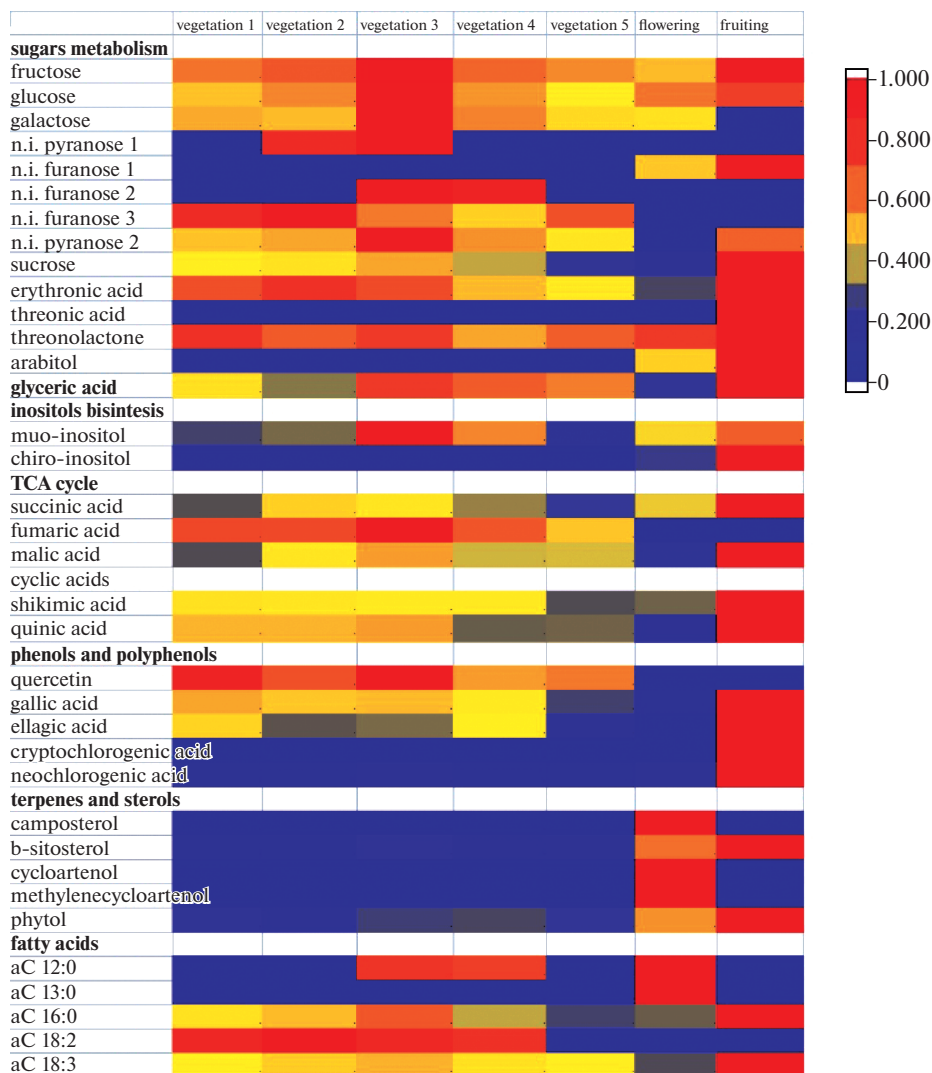


Рис. 6. Тепловая карта содержания соединений основных классов (средние значения для трех повторностей) в листьях *Euphorbia squamosa* на разных стадиях развития растений. Вегетация 1 (vegetation 1) – сбор от 15.04.2015; вегетация 2 (vegetation 2) – сбор от 21.04.2015; вегетация 3 (vegetation 3) – сбор от 27.04.2015; вегетация 4 (vegetation 4) – сбор от 05.05.2015; вегетация 5 (vegetation 5) – сбор от 14.05.2015; цветение (flowering) – сбор от 03.06.2015; плодоношение (fruiting) – сбор от 24.06.2015. Максимальная концентрация принята за 1. n.i. – неидентифицированные соединения.

Fig. 6. Heat map of the content of compounds of the main classes (average values for three replications) in *Euphorbia squamosa* leaves at different stages of plant development. Vegetation 1 – collection 15.04.2015; vegetation 2 – collection 21.04.2015; vegetation 3 – collection 27.04.2015; vegetation 4 – collection from 05.05.2015; vegetation 5 – collection 14.05.2015; flowering – collection 03.06.2015; fruiting – collection 24.06.2015. The maximum concentration is taken as 1. n.i. – unidentified compounds.

Расширение метаболомных исследований растений рода *Euphorbia* с учетом их онтогенетических особенностей может внести вклад в понимание вопросов систематики данного рода.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках плановой темы БИН РАН № АААА-А18-118032390136-5, а также Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 15-29-02604).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [Batygin] Батыгин Н.Ф. 1995. Физиология онтогенеза. – В кн.: Теоретические основы селекции. Т. 2, ч. 1. СПб. С. 14–97.
- Cao X., Gao Y., Wang Y., Li C.M., Zhao Y.B., Han Z.H., Zhang X.Z. 2011. Differential expression and modification of proteins during ontogenesis in *Malus domestica*. – *Proteomics*. 11 (24): 4688–4701. <https://doi.org/10.1002/pmic.201100132>
- Dong X., Gao Y., Chen W., Wang W., Gong L., Liu X., Luo J. 2015. Spatiotemporal Distribution of Phenolamides and the Genetics of Natural Variation of Hydroxycinnamoyl Spermidine in Rice. – *Mol. Plant*. 8: 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.11.003>
- Grigorenko M.G. 2006. Global dynamics of biological systems from time-resolved omics experiments. – *Systems biology*. 22 (12): 1424–1430. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl119>
- Hegeman A.D. 2010. Plant metabolomics – Meeting the analytical challenges of comprehensive metabolite analysis. – *Brief. Funct. Genom.* 9: 139–148. <https://doi.org/10.1093/bfpg/elp053>
- Hong J., Yang L., Zhang D., Shi J. 2016. Plant Metabolomics: An Indispensable System Biology Tool for Plant Science. – *Int. J. Mol. Sci.* 17 (6): 767. <https://doi.org/10.3390/ijms17060767>
- Khakimov B., Bak S., Engelsens S.B. 2014. High-throughput cereal metabolomics: Current analytical technologies, challenges and perspectives. – *J. Cereal Sci.* 59: 393–418. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.10.002>
- Kim H.K., Verpoorte R. 2010. Sample Preparation for Plant Metabolomics. – *Phytochem. Anal.* 21: 4–13. <https://doi.org/10.1002/pca.1188>
- Komarov A.S., Palenova M.M., Smirnova O.V. 2003. The concept of discrete description of plant ontogenesis and cellular automata models of plant populations. – *Ecol. Model.* 170: 427–439. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(03\)00243-6](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(03)00243-6)
- [Kotlova et al.] Котлова Е.Р., Петрона Н.В., Медведева Н.А., Виноградская М.А., Пузанский Р.К., Сазанова К.В., Гельтман Д.В., Шаварда А.Л. 2018. Внутрипопуляционная изменчивость метаболома *Euphorbia palustris* (L.) (Euphorbiaceae) в зависимости от фенологической фазы. – *Растительные ресурсы*. 54 (4): 558–585. <https://doi.org/10.1134/S0033994618040064>
- Muhlemann J.K., Maeda H., Chang C.Y., San Miguel P., Baxter I., Cooper B., Perera M.A., Nikolau B.J., Vitek O., Morgan J.A., Dudareva N. 2012. Developmental changes in the metabolic network of snapdragon flowers. – *PLoS One*. 7 (7): e40381. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040381>
- Okazaki Y., Saito K. 2012. Recent advances of metabolomics in plant biotechnology. – *Plant Biotechnol. Rep.* 6: 1–15. <https://doi.org/10.1007/s11816-011-0191-2>
- Pintus F., Medda R., Rinaldi A.C., Spanò D., Floris G. 2010. *Euphorbia* latex biochemistry: Complex interactions in a complex environment. – *Plant Biosystems*. 144 (2): 381–391. <https://doi.org/10.1080/11263500903396016>
- Shavarda A., Kotlova E., Pozhvanov G., Sazanova K., Senik S. 2016. Existential metabolomics: visualization of growth and development processes through metabolite profiling. – In: *Proceeding of 12th Annual conference of the metabolomics society*. Dublin. P. 124.
- [Shavarda, Geltman] Шаварда А.Л., Гельтман Д.В. 2017. Скелетные типы дитерпеноидов и система рода *Euphorbia* (Euphorbiaceae). – *Раст. ресурсы*. 53 (2): 163–195.

Song H.-H., Ryu H.W., Lee K.J., Jeong I.Y., Kim D.S., Sei-Ryang O. 2014. Metabolomics investigation of flavonoid synthesis in soybean leaves depending on the growth stage. — *Metabolomics*. 10 (5): 833–841.

<https://doi.org/10.1007/s11306-014-0640-3>

Tarpley L., Duran A.L., Kebrom T.H., Sumner L.W. 2005. Biomarker metabolites capturing the metabolite variance present in a rice plant developmental period. — *BMC Plant Biol.* 5: 767.

<https://doi.org/10.1186/1471-2229-5-8>.

Watanabe M., Balazadeh S., Tohge T., Erban A., Giavalisco P., Kopka J., Mueller-Roeber B., Fernie A.R., Hoefgen R. 2013. Comprehensive dissection of spatiotemporal metabolic shifts in primary, secondary, and lipid metabolism during developmental senescence in *Arabidopsis*. — *Plant Physiol.* 162 (3): 1290–310.

<https://doi.org/10.1104/pp.113.217380>

Zhang B., Tian Y.M.S., Zhang Z. 2014. Network Biology in Medicine and Beyond. — *Circ. Cardiovasc. Genet.* 7 (4): 536–547.

<https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.113.000123>

DYNAMICS OF LEAVES METABOLOME OF *EUPHORBIA* (EUPHORBIACEAE) PLANTS WITH CHANGE OF PHENOLOGICAL PHASES

K. V. Sazanova^{a,#}, E. R. Kotlova^a, R. K. Puzansky^{a,b}, N. A. Medvedeva^a, M. A. Vinogradskaya^a, N. V. Petrova^a, N. I. Pavlova^a, D. V. Geltman^a, and A. L. Shavarda^{a,b}

^a Komarov Botanical Institute RAS

Prof. Popov Str., 2, St. Petersburg, 197376, Russia

^b St. Petersburg State University

Universitetskaya Emb., 7/9, St. Petersburg, 199034, Russia

[#]e-mail: Ksazanova@binran.ru

The analysis of dynamic changes in the metabolome of plants of the genus *Euphorbia* (*E. palustris* and *E. squamosa*) from the Helioscopia section was fulfilled. Using chromatography-mass spectrometry analysis with subsequent statistical processing of the metabolite matrix, a significant part of the metabolomic changes occurring in the process of changing the phenological phases of plant was revealed. A single vegetative organ of a plant may reflect systemic changes in the metabolome of the organism. The inter-species differences of plants appear differently depending on the stage of development.

Keywords: metabolomics, phenological phases, ontogenesis, spurge, principal component analysis

ACKNOWLEDGMENTS

The work was carried out within the framework of the planned project of the Komarov Botanical Institute RAS № AAAA-A18-118032390136-5.

REFERENCES

Batygin N.F. 1995. Fiziologiya ontogeneza [Physiology of ontogenesis]. — In.: Teoreticheskie osnovy selektsii. SPb. 2 (1): 14–97 (In Russ.).

Cao X., Gao Y., Wang Y., Li C.M., Zhao Y.B., Han Z.H., Zhang X.Z. 2011. Differential expression and modification of proteins during ontogenesis in *Malus domestica*. — *Proteomics*. 11 (24): 4688–701. <https://doi.org/10.1002/pmic.201100132>.

Dong X., Gao Y., Chen W., Wang W., Gong L., Liu X., Luo J. 2015. Spatiotemporal Distribution of Phenolamides and the Genetics of Natural Variation of Hydroxycinnamoyl Spermidine in Rice. — *Molecular Plant*. 8: 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.11.003>.

Grigorov M.G. 2006. Global dynamics of biological systems from time-resolved omics experiments. — *Systems biology*. 22 (12): 1424–1430. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl119>.

Hegeman A.D. 2010. Plant metabolomics – Meeting the analytical challenges of comprehensive metabolite analysis. – *Brief. Funct. Genom.* 9: 139–148. <https://doi.org/10.1093/bfpg/elp053>.

Hong J., Yang L., Zhang D., Shi J. 2016. Plant Metabolomics: An Indispensable System Biology Tool for Plant Science. – *Int. J. Mol. Sci.* 17 (6): 767. <https://doi.org/10.3390/ijms17060767>.

Khakimov B., Bak S., Engelsens S.B. 2014. High-throughput cereal metabolomics: Current analytical technologies, challenges and perspectives. – *J. Cereal Sci.* 59: 393–418. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.10.002>.

Kim H.K., Verpoorte R. 2010. Sample Preparation for Plant Metabolomics. – *Phytochem. Anal.* 21: 4–13. <https://doi.org/10.1002/pca.1188>.

Komarov A.S., Palenova M.M., Smirnova O.V. 2003. The concept of discrete description of plant ontogenesis and cellular automata models of plant populations. – *Ecological Modelling.* 170: 427–439. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(03\)00243-6](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(03)00243-6)

Kotlova E.R., Petrona N.V., Medvedeva N.A., Vinogradskaya M.A., Puzanskii R.K., Sazanova K.V., Geltman D.V., Shavarda A.L. 2018. Intrapopulation variability of *Euphorbia palustris* (L.) (Euphorbiaceae) metabolome depending on phenological phase. – *Rastitelnye resursy.* 54 (4): 558–585. <https://doi.org/10.1134/S0033994618040064> (In Russ.).

Muhlemann J.K., Maeda H., Chang C.Y., San Miguel P., Baxter I., Cooper B., Perera M.A., Nikolau B.J., Vitek O., Morgan J.A., Dudareva N. 2012. Developmental changes in the metabolic network of snapdragon flowers. – *PLoS One.* 7 (7): e40381. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040381>.

Okazaki Y., Saito K. 2012. Recent advances of metabolomics in plant biotechnology. – *Plant Biotechnol. Rep.* 6: 1–15. <https://doi.org/10.1007/s11816-011-0191-2>.

Pintus F., Medda R., Rinaldi A.C., Spanò D., Floris G. 2010. *Euphorbia* latex biochemistry: Complex interactions in a complex environment. – *Plant Biosystems.* 144 (2): 381–391. <https://doi.org/10.1080/11263500903396016>.

Shavarda A., Kotlova E., Pozhvanov G., Sazanova K., Senik S. 2016. Existential metabolomics: visualization of growth and development processes through metabolite profiling. – In: *Proceeding of 12th Annual conference of the metabolomics society.* Dublin. P. 124.

Shavarda A.L., Geltman D.V. 2017. Skeleton types of diterpenoids and the system of genus *Euphorbia* (Euphorbiaceae). – *Rastitelnye resursy.* 53 (2): 163–195 (In Russ.).

Song H.-H., Ryu H.W., Lee K.J., Jeong I.Y., Kim D.S., Sei-Ryang O. 2014. Metabolomics investigation of flavonoid synthesis in soybean leaves depending on the growth stage. – *Metabolomics.* 10 (5): 833–841. <https://doi.org/10.1007/s11306-014-0640-3>.

Tarpley L., Duran A.L., Kebrom T.H., Sumner L.W. 2005. Biomarker, Biomarker metabolites capturing the metabolite variance present in a rice plant developmental period. – *BMC Plant Biol.* 5: 767. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-5-8>.

Watanabe M., Balazadeh S., Tohge T., Erban A., Giavalisco P., Kopka J., Mueller-Roeber B., Fernie A.R., Hoefgen R. 2013. Comprehensive dissection of spatiotemporal metabolic shifts in primary, secondary, and lipid metabolism during developmental senescence in *Arabidopsis*. – *Plant Physiol.* 162 (3): 1290–310. <https://doi.org/10.1104/pp.113.217380>.

Zhang B., Tian Y.M.S., Zhang Z. 2014. Network Biology in Medicine and Beyond. – *Circ. Cardiovasc. Genet.* 7 (4): 536–547. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.113.000123>.