

СОДЕРЖАНИЕ И СОСТАВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ СУММАРНЫХ ЛИПИДОВ ПОЧЕК *Betula pubescens*, *B. pendula*, *B. pendula* var. *carelica*

© 2019 г. И. В. Морозова^а, Н. П. Чернобровкина^{б, 1}, М. К. Ильинова^б,
В. П. Пчёлкин^с, В. Д. Цыдендамбаев^с

^аИнститут водных проблем Севера КарНЦ РАН, Федеральный исследовательский центр
“Карельский научный центр РАН”, Петрозаводск, Россия

^бИнститут леса КарНЦ РАН, Федеральный исследовательский центр
“Карельский научный центр РАН”, Петрозаводск, Россия

^сФедеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

Поступила в редакцию 29.12.2017 г.

После доработки 04.03.2018 г.

Принята к публикации 05.03.2018 г.

Представлены результаты исследований абсолютного содержания и состава жирных кислот (ЖК) суммарных липидов почек березы пушистой (*Betula pubescens* Ehrh.), березы повислой (*B. pendula* Roth.) и ее подвида – *B. pendula* var. *carelica* Merckl. Выявлены различия между изученными березами по этим показателям в расчете на 1 г сухой массы. Почка карельской березы содержала достоверно большее количество ЖК суммарных липидов по сравнению с почками двух других берез. Установленные различия в содержании ЖК суммарных липидов у разных видов и формы березы отражают особенности биосинтеза липидных соединений и могут служить в качестве одного из индикаторов для видовой диагностики растений рода *Betula* L.

Ключевые слова: *Betula pubescens* – *Betula pendula* – *Betula pendula* var. *carelica* – почки – жирнокислотный состав липидов – видовые различия

DOI: 10.1134/S001533031901010X

ВВЕДЕНИЕ

Карельская береза является подвидом березы повислой и представляет собой исключительно ценную форму рода *Betula* L., отличающуюся от остальных форм и видов этого рода узорчатостью древесины. Вследствие высокой ценности древесины выявление редкой формы березы имеет большое значение, однако далеко не всегда это можно сделать визуально, и лишь небольшой процент растений наследует узорчатость древесины [1]. Установлено, что у карельской березы в зонах развития структурных аномалий ствола не запускается программа гибели клеток, приводящая к формированию сосудов и волокнистых трахеид ксилемы и ситовидных трубок флоэмы, а дифференцирующиеся камбиальные производные сохраняют протопласт и превращаются в

клетки запасающей паренхимы, которые накапливают большое количество липидов и танинов [2–4]. Для идентификации узорчатости древесины карельской березы было предложено использовать активность пероксидазы в тканях ксилемы с учетом режима азотного питания, а также в лубяной ткани с учетом развития растения по фазам и этапам онтогенеза [5]. Для выявления видовой принадлежности растений рода *Betula* предлагалось использовать особенности липидного состава органов и тканей [1]. При исследовании почек гибридных растений с преобладанием признаков березы пушистой отмечалось повышенное содержание суммарных липидов, которое достигало 40–45% от сухой массы, тогда как в гибридах с преобладанием признаков березы повислой этот показатель составлял лишь 34–36% [1].

К настоящему времени проведено много исследований по изучению отдельных этапов годичных изменений фракционного и жирнокислотного (ЖК-) состава липидов разных органов берез [6–9]. Большое внимание уделялось изучению липидного состава почек растений: обнаружены отличия количественного и качественного состава

Сокращения: ЖК – жирные кислоты; ЖК-состав – жирнокислотный состав; ЖКОДЦ – жирные кислоты с очень длинной цепью; ИН – индекс ненасыщенности, ГЖХ-МС – газо-жидкостная хроматография и масс-спектрометрия.

¹ *Адрес для корреспонденции:* Чернобровкина Надежда Петровна, 185910 Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11. Институт леса КарНЦ РАН. Электронная почта: chernobrovkina50@bk.ru

липидов разных видов и форм берез, проведены исследования эндогенной, индивидуальной, возрастной, сезонной, географической изменчивости некоторых представителей рода *Betula*, исследован ЖК-состав и определены главные ЖК липидов почек берез [1, 6–11].

Цель работы – сравнительное исследование абсолютного содержания и ЖК-состава суммарных липидов почек *Betula pubescens*, *B. pendula*, *B. pendula var. carelica* и определение возможности использования этих показателей для видовой диагностики растений рода *Betula*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали вегетативные почки 30-летних растений березы пушистой (*Betula pubescens* Ehrh.), повислой (*B. pendula* Roth.) и карельской (*B. pendula var. carelica* Merckl.), произрастающих на опытных участках агробиологической станции Института леса Карельского научного центра РАН в черте г. Петрозаводска. Почки берез отбирали с боковых побегов средней части кроны, южной экспозиции 11.01.2017 г. в период покоя, хранили их до утра на морозе и на следующий день лиофильно высушивали. Предварительно в летний период была проведена идентификация исследуемых берез по морфологическим признакам. Для выявления повислой и пушистой берез были использованы форма и опушение листьев, наличие бородавочек или опущения на ауксисблестах (побегах текущего года). Карельскую березу выявляли по форме ствола, а именно по наличию характерных вздутий, неровностей, крупных бугорков и бугорчатых выпуклостей.

Метилловые эфиры ЖК (МЭЖК) суммы ацилсодержащих липидов получали путем переэтерификации [12], их состав анализировали методами газо-жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии (ГЖХ-МС) на приборе Agilent 7890AGC (“Agilent Technologies, Inc.”, США) с 60-метровой капиллярной колонкой с внутренним диаметром 0.25 мм (DB-23). Колонка содержала привитую (50% цианопропил)-метилполисилоксановую полярную жидкую фазу толщиной слоя 0.25 мкм. Условия разделения МЭЖК: давление газа-носителя (гелия) в инжекторе – 191 кПа; рабочее давление газа в колонке – 245 кПа; расход газа – 1 мл/мин; линейная скорость газа-носителя в колонке – 18 см/с; объем раствора образца – 1 мкл (10 мкг МЭЖК); делитель потока – 1 : 20, температура испарителя – 260°C. Программа градиента температуры колонки: повышение температуры от 130 до 170°C со скоростью 6.5°C/мин; от 170 до 215°C со скоростью 2.75°C/мин; выдержка при 215°C в течение 25 мин, от 215 до 240°C со скоростью 5°C/мин и выдержка при 240°C в течение 50 мин. Рабочая температура МС-детектора (5975CMSD) – 240°C. Для идентификации индивидуальных ви-

дов МЭЖК и расчета их количественного содержания в смеси использовали расширенный пакет встроенных рабочих программ MSD ChemStation G1701EAE.02.00.493 и библиотекой спектров NIST [13]. Абсолютное содержание ацилсодержащих липидов выражали в мг этерифицированных ЖК на 1 г воздушно-сухой массы и на одну почку, которое определяли методом ГЖХ с внутренним стандартом [14], а также проводили расчет индекса насыщенности (ИН) ЖК [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 приведены данные абсолютного содержания суммарных липидов почек *B. pubescens*, *B. pendula* и *B. pendula var. carelica* в расчете на 1 г сухой массы и на 1 почку. Наибольшее содержание суммарных липидов в расчете на сухое вещество наблюдалось у карельской березы (35 мг/г), а почки повислой и пушистой берез имели достоверно более низкое содержание липидов (23–24 мг/г). При расчете на одну почку наибольшее содержание липидов наблюдалось у березы повислой, превышавшее их абсолютное содержание у березы пушистой и карельской на 42 и ~14.5% соответственно; почки березы пушистой отличались наименьшим содержанием липидов при обоих способах расчета. Полученные нами данные, касающиеся высокого уровня ЖК суммарных липидов в почках карельской березы, свидетельствуют о том, что у этой формы березы повышенное содержание липидов наблюдается не только в зонах развития структурных аномалий ствола, как это было отмечено выше [2–4]. При проведении экстракции суммарных липидов по методу Folch с соавт. [16], согласно которому в качестве экстрагента использовали смесь хлороформа с метанолом (2 : 1), было показано, что количество суммарных липидов в полностью сформированных зимних почках березы пушистой было на 25% выше, чем у березы повислой и на 26% выше, чем у карельской [11]. Максимальные значения содержания суммарных липидов в почках березы пушистой, повислой и карельской составили, соответственно, 56, 42 и 41% от сухой массы почек. Высокий уровень суммарных липидов, полученных из почек путем экстракции указанными выше растворителями, предположительно можно объяснить наличием в экстракте, кроме липидов, большого количества смолистых веществ, пигментов и других липофильных органических соединений.

Суммарные липиды березы повислой и ее формы – карельской березы – отличались большим разнообразием качественного состава ЖК (по 25 индивидуальных видов), чем у березы пушистой (12 видов) (табл. 1). Главными ЖК липидов почек березы пушистой были пальмитиновая (16:0), олеиновая (Δ9-18:1), линолевая (Δ9,12-18:2), α-линоленовая (Δ9,12,15-18:3) и бегеновая (22:0)

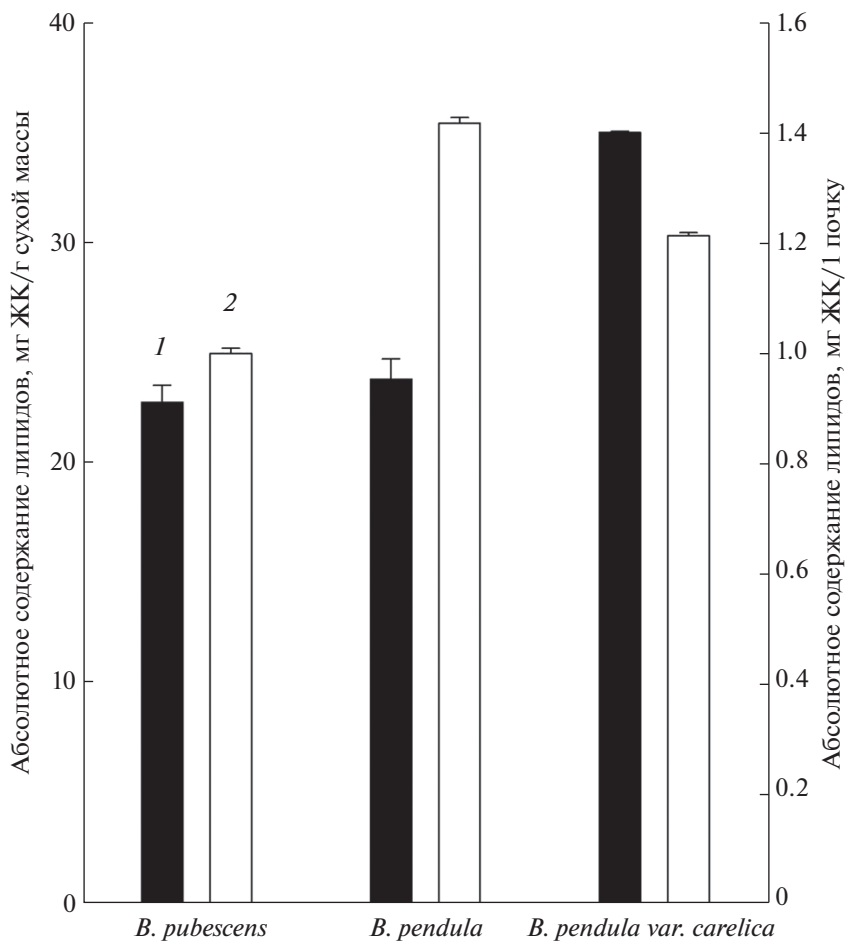


Рис. 1. Абсолютное содержание суммарных липидов почек *Betula pubescens*, *B. pendula*, *B. pendula var. carelica* в расчете на 1 г сухой массы (1) и на 1 почку (2).

кислоты, а у березы повислой, помимо этих ЖК, к числу главных принадлежала также арахидоновая (20:0) кислота; главными ЖК липидов почек карельской березы были пальмитиновая, олеиновая, линолевая и α -линоленовая. Липиды почек карельской березы отличались достоверно более высоким относительным содержанием диненасыщенных и триненасыщенных ЖК от липидов почек как березы пушистой (на ~14 и ~12% соответственно), так и березы повислой (на ~19 и 59% соответственно), и более низким (на ~20 и ~59%, на ~23 и ~29% соответственно) уровнем насыщенных и мононенасыщенных ЖК. Именно поэтому почки карельской березы превосходили почки двух других берез по уровню ненасыщенности (ИН) ЖК суммарных липидов (на 11 и ~34% соответственно). Наконец, карельская береза отличалась от березы пушистой и, особенно, от березы повислой значительно более низким относительным содержанием в липидах ЖК с очень длинной цепью (ЖКОДЦ) – на 44 и ~146% соответственно. Наибольший уровень ЖКОДЦ в суммарных липидах почек имел место у березы

повислой. Поскольку почки берез снаружи покрыты липким липофильным слоем (береза пушистая) или восковым налетом (береза повислая, карельская береза) [11, 17, 18], ЖКОДЦ могли быть компонентами именно этих липидов. Тетраненасыщенных ЖК в липидах почек *B. pubescens*, *B. pendula* и *B. pendula var. carelica* нам обнаружить не удалось.

Сравнение полученных в нашей работе данных с имеющимися в литературе показали, что при наличии определенного сходства имеются существенные отличия. Так, по данным Ветчинниковой с соавт. [8, 11], в суммарных липидах почек у *B. pendula* и *B. pubescens* поддерживался высокий уровень суммы ненасыщенных ЖК (до 89% от суммы ЖК) по сравнению с долей насыщенных. В липидах почек *B. pubescens*, *B. pendula* и *B. pendula var. carelica* преобладали ди- (30.3, 44.8 и 38.1% от суммы ЖК соответственно) и триненасыщенные ЖК (31.8, 33.4 и 37.4% от суммы ЖК соответственно) [8]. Доля диненасыщенных ЖК в липидах почек березы повислой была на 14.5% выше, чем у березы пушистой, и на 6.7% выше,

Таблица 1. Состав ЖК суммарных липидов двух видов и одного подвида растений рода *Betula* L. (массовый процент от суммы МЭЖК)

Состав ЖК	<i>B. pubescens</i>	<i>B. pendula</i> ¹	<i>B. pendula var. carelica</i> ²
14:0	1.1 ± 0.1	2.5 ± 0.1	1.5 ± 0.1
15:0	—	0.5 ± 0.0	0.2 ± 0.0
16:0	18.1 ± 0.3	18.7 ± 0.5	17.2 ± 0.4
Δ7-16:1	0.2 ± 0.0	0.3 ± 0.1	0.6 ± 0.1
Δ9-16:1	2.5 ± 0.2	2.9 ± 0.2	0.2 ± 0.1
Δ11-16:1c	—	2.2 ± 0.1	0.3 ± 0.0
Δ13-16:1	—	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0
Δ7,10-16:2c	—	4.5 ± 0.1	0.3 ± 0.2
18:0	2.1 ± 0.1	2.7 ± 0.1	1.5 ± 0.1
Δ9-18:1	6.6 ± 0.4	2.8 ± 0.1	5.0 ± 0.3
Δ11-18:1	0.5 ± 0.0	1.2 ± 0.0	0.7 ± 0.1
Δ9,12-18:2	33.3 ± 0.4	25.1 ± 0.4	38.0 ± 0.4
Δ9,12,15-18:3	19.9 ± 0.4	8.9 ± 0.1	22.6 ± 0.2
19:0	—	0.3 ± 0.1	0.1 ± 0.0
20:0	4.6 ± 0.2	7.7 ± 0.2	2.2 ± 0.1
Δ11-20:1	—	0.4 ± 0.0	0.5 ± 0.1
Δ13-20:1	—	0.3 ± 0.0	0.5 ± 0.1
Δ11,14-20:2	—	1.7 ± 0.0	0.3 ± 0.0
21:0	—	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.0
22:0	10.4 ± 0.5	11.7 ± 0.6	3.0 ± 0.1
24:0	0.7 ± 0.1	2.2 ± 0.4	1.7 ± 0.4
26:0	—	1.8 ± 0.7	2.6 ± 0.5
Насыщенные	37.0 ± 0.1	49.1 ± 0.2	30.8 ± 0.1
Мононенасыщенные	9.8 ± 0.1	10.3 ± 0.1	8.0 ± 0.1
Диненасыщенные	33.3 ± 0.1	31.3 ± 0.2	38.6 ± 0.2
Триненасыщенные	19.9 ± 0.2	9.3 ± 0.1	22.6 ± 0.1
Σ ЖКОДЦ	15.7 ± 0.1	26.8 ± 0.1	10.9 ± 0.1
ИН	1.361 ± 0.006	1.008 ± 0.006	1.530 ± 0.008

Примечание. ¹ Также содержались Δ7,10,13-16:3 (0.4 ± 0.1%), Δ13-18:1 (0.1 ± 0%) и 28:0 (0.9 ± 0%) ЖК. ² Также содержались 13-Ме-14:0 (0.5 ± 0%), Δ9-14:1 (0.1 ± 0%) и 15-Ме-16:0 (0.2 ± 0%) ЖК.

чем у карельской [8]. По нашим данным, доля ди- и триеновых ЖК в липидах почек была наибольшей у карельской березы и наименьшей у березы повислой, отличавшейся более высоким уровнем насыщенных и мононенасыщенных ЖК в липидах почек. По данным тех же авторов [8], в составе суммарных липидов почек березы повислой доля C₁₈-ЖК достигала 80–85%, тогда как в почках березы пушистой содержание этих ЖК составляло только 40–50% от общего количества. При этом почки березы пушистой отличались повышенным содержанием короткоцепочечных и насыщенных ЖК. В липидах почек гибридов, полученных при скрещивании березы повислой и карельской березы и наследующих признаки основного вида – березы повислой, содержалось

линолевой и α-линоленовой кислот до 75% от суммы ЖК [1]. Различия в результатах исследования ЖК-состава суммарных липидов почек берез, полученных нами и упомянутыми выше авторами, возможно, объясняются различиями в методах выделения липидов из растительных тканей.

Таким образом, можно заключить, что абсолютное содержание и качественный состав ЖК суммарных липидов почек *B. pendula*, *B. pubescens* и *B. pendula var. carelica* может быть использован в качестве одного из критериев для выявления карельской березы, а также березы повислой и пушистой. Признаком, характерным для карельской березы, является высокое содержание ацилсодержащих липидов в покоящихся почках (35 мг/г), повышенное по сравнению с березами

повислой и пушистой относительное содержание ди- и триненасыщенных ЖК (39 и 23% от суммы МЭЖК соответственно), а также более низкое по сравнению с двумя другими березами содержание насыщенных и мононенасыщенных ЖК (31 и 8% соответственно). Отличительным признаком березы повислой по сравнению с карельской и пушистой является высокое содержание в почках насыщенных ЖК и ЖКОДЦ (49 и 27% соответственно) и низкое содержание триненасыщенных ЖК (9%). Отличительной особенностью березы пушистой по сравнению с двумя другими березами является минимальный компонентный состав ЖК (12 индивидуальных видов), довольно низкая доля мононенасыщенных ЖК и ЖКОДЦ (10 и 16% от суммы МЭЖК соответственно), а также высокий уровень насыщенных, ди- и триненасыщенных ЖК (37, 33 и 20% соответственно) в липидах почек. Другим критерием мог бы послужить состав липидных классов и/или ЖК-состав этих классов липидов, однако для этого необходимы дополнительные исследования.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания Карельского научного центра Российской академии наук (Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук) и в рамках темы № 16 по государственному заданию Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ветчинникова Л.В.* Карельская береза и другие редкие представители рода *Betula* L. М.: Наука, 2005. 269 с.
2. *Коровин В.В., Новицкая Л.Л., Курносков Г.А.* Структурные аномалии стебля древесных растений. М.: Московский государственный университет леса, 2003. 280 с.
3. *Novitskaya L.L., Kushnir F.V.* The role of sucrose in regulation of trunk tissue development in *Betula pendula* Roth // *Journal of Plant Growth Regulation*. 2006. V. 25. P. 18–29.
4. *Новицкая Л.Л.* Карельская береза: механизмы роста и развития структурных аномалий. Петрозаводск: Verso, 2008. 144 с.
5. *Галибина Н.А., Мошкина Е.В., Никерова К.М., Мошеченская Ю.Л., Знаменский С.Р.* Активность пероксидазы как индикатор степени узорчатости древесины карельской березы // *Лесоведение*. 2016. № 4. С. 294–304.
6. *Конина Л.В.* К вопросу о внутривидовой изменчивости *Betula pubescens* Ehrh. и *Betula pendula* Roth по содержанию липидов и их жирнокислотному составу в почках // *Селекция и лесное семеноводство в Карелии*. Петрозаводск, 1979. С. 29–38.
7. *Родионов В.С., Ильинова М.К., Шуляковская Т.А.* Годичные ритмы концентрации и жирнокислотного состава липидов почек березы // *Лесоведение*. 1987. № 4. С. 57–64.
8. *Ветчинникова Л.В., Шуляковская Т.А., Канючкова Г.К.* Жирнокислотный состав суммарных липидов различных органов *Betula pendula* Roth и *B. pubescens* Ehrh., произрастающих в Карелии // *Растительные ресурсы*. 2000. Т. 36, вып. 2. С. 85–92.
9. *Шуляковская Т.А., Ветчинникова Л.В., Канючкова Г.К., Ильинова М.К.* Содержание липидов и жирнокислотный состав их фракций в различные фазы развития почек и листьев *Betula pendula* Roth и *B. pubescens* Ehrh. // *Растительные ресурсы*. 2004. Т. 40, вып. 1. С. 69–75.
10. *Чернобровкина Н.П., Ильинова М.К.* Состав жирных кислот глико- и фосфолипидов почек и листьев березы повислой // *Липидный обмен древесных растений в условиях Севера*. Петрозаводск: КФАН, 1983. С. 112–118.
11. *Ветчинникова Л.В.* Береза: вопросы изменчивости. М.: Наука, 2004. 183 с.
12. *Gombos Z., Wada H., Murata N.* The recovery of photosynthesis from low-temperature photoinhibition is accelerated by the unsaturation of membrane lipids: a mechanism of chilling tolerance // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1994. V. 91. P. 8787–8791.
13. *Сидоров Р.А., Жуков А.В., Верещагин А.Г., Цыдендамбаев В.Д.* Низшие алкиловые эфиры жирных кислот из плодов бересклета // *Физиология растений*. 2012. Т. 59. С. 362–368.
14. *Озернина О.В., Цыдендамбаев В.Д.* Влияние предпосевного γ -облучения семян облепихи на содержание и жирнокислотный состав суммарных липидов в семенах первого поколения растений // *Физиология растений*. 2011. Т. 58. С. 302–307.
15. *Lyons J.M., Weaton T.A., Pratt H.K.* Relationship between the physical nature of mitochondrial membranes and chilling sensitivity in plants // *Plant Physiol*. 1964. V. 39. P. 262–270.
16. *Folch J., Lees M., Stanley G.H.* A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // *J. Biol. Chem*. 1957. V. 226. P. 497–509.
17. *Piispänen R., Saranpää P.* Seasonal and within-stem variations of neutral lipids in silver birch (*Betula pendula*) wood // *Tree Physiology*. 2004. № 24. P. 991–999.
18. *Нестеров В.Н.* Состав нейтральных липидов *Hydrilla verticillata* (L. fil.) Royle в условиях аккумуляции и элиминации ионов тяжелых металлов // *Прикладные проблемы экологии*. 2007. С. 1045–1054.