

УДК 630.165.5:630*17:582.475.4

О ВОЗМОЖНОСТИ ИЗУЧЕНИЯ ПРОЦЕССОВ ВЗАИМОПРЕВРАЩЕНИЯ ЛЕГКОЛЕТУЧИХ СОЕДИНЕНИЙ ХВОИ У ХВОЙНЫХ РАСТЕНИЙ НА ОСНОВЕ СТАТИЧЕСКИХ ДАННЫХ В ПОПУЛЯЦИОННЫХ ВЫБОРКАХ

© 2022 г. И. В. Тихонова®

Западно-Сибирское отделение Института леса им. В. Н. Сукачева СО РАН – филиал ФИЦ КНЦ СО РАН,
ул. Жуковского, 100/1, Новосибирск, 639982 Россия

®E-mail: azimut360@mail.ru

Поступила в редакцию 10.03.2021 г.

После доработки 24.12.2021 г.

Принята к публикации 24.12.2021 г.

Приведены результаты исследования популяционной структуры биохимических признаков (большого числа летучих терпеноидов хвои) на больших выборках деревьев сосны обыкновенной. Данные анализировали с помощью корреляционного, кластерного анализов и метода главных компонент. Установлена значительная сопряженность содержания всех выделенных соединений хвои. Особенности корреляционной структуры терпеноидов свидетельствуют о том, что у растений могут одновременно запускаться процессы их группового синтеза. Сделан вывод о возможности использования статических данных, полученных на больших выборках деревьев для предварительного изучения процессов взаимопревращений терпеноидных соединений у хвойных растений, отличающихся высокой реакционной способностью и сложностью их исследования химическими методами.

Ключевые слова: корреляционная структура, популяции, терпеноиды, процессы взаимопревращения, сосна обыкновенная

DOI: 10.31857/S1026347022040138

Как известно, в тканях хвойных растений синтезируется большое количество разнообразных терпеноидов (Пентегова и др., 1987; Ламоткин и др., 2008), которые выполняют важные функции в метаболизме: участвуют в защитных и адаптационных реакциях деревьев, в процессах гормональной регуляции роста, репродукции, сигнальной системе (Pallardy, 2008; Pulido *et al.*, 2012). Они являются ценным лекарственным и химическим сырьем для различных отраслей хозяйства (Чернодубов, Дерюжкин, 1990; Племенков, 2001; McCreath, Delgoda, 2016): монотерпены составляют основную часть живицы хвои, кислородосодержащие соединения часто используются в составе антибактериальных, фунгицидных, инсектицидных, пестицидных и антигельминтных препаратов (Племенков, 2001). Поэтому их изучение представляет большой интерес и пользу в широком перечне решений научных и практических вопросов. В частности, изучение биохимического разнообразия соединений, разнообразия “хемотипов” в популяциях (Чудный, Проказин, 1973; Юмадилов и др., 1991; Степень, 2000; Домрачев и др., 2011; Тараканов и др., 2012; Тихонова и др., 2012; Кузьмин и др., 2020) является составной ча-

стью раздела, посвященного проблемам исследования и сохранения биоразнообразия и устойчивости природных экосистем.

Ранее нами были выявлены наиболее тесно связанные легколетучие компоненты (Тихонова и др., 2014). Данное исследование является продолжением и развитием предыдущей работы. Его цель – изучение общей корреляционной структуры всего набора соединений, а также проверка возможности использования результатов анализа статических данных для изучения процессов образования и взаимопревращения терпеноидов в популяционных выборках сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на популяциях сосны обыкновенной, произрастающих на юге Средней Сибири: в Балгазынском бору в Туве (51°10′ с.ш., 95°5′ в.д.) в сосняке разнотравно-злаковым (10С, бонитет II–III) – P1 и в окр. п. Ширы в Хакасии (54°24′ с.ш., 89°59′ в.д.) в сосняке каменисто-лишайниковом (7С2Б1Л, бонитет V–Va) – P2. В популяциях на репрезентативной выборке, соответ-

ственно, 100 и 75 деревьев у каждого дерева в начале октября 2011 г. собирали хвою с 10–20 побегов текущего года роста в средней части кроны с 4-х сторон. Образцы собирали непосредственно перед анализом и непродолжительное время хранили в специальных герметично закрытых пробирках в холодильнике.

Для определения компонентного состава летучих соединений в образцах хвои использовали хромато-масс-спектрометр “Agilent 5975C-7890A” (США) и парофазный пробоотборник HeadSpace Sampler G1888. Использовали 30-метровую кварцевую колонку HP-5 с внутренним диаметром 0.25 мм (сополимер 5%-дифенил-95%-диметил-силоксан), газом-носителем служил гелий. Температуру колонки повышали от 50°C (10 мин), до 200°C со скоростью 4°C/мин; в парофазном пробоотборнике температура термостата составляла 100°C, температура петли – 110°C, температура HS-интерфейса – 115°C, время выдержки образца в термостате пробоотборника – 7 мин; температура испарителя – 280°C, температура ионизационной камеры – 170°C, энергия ионизации – 70 эВ. Компоненты в образце идентифицировали с помощью программы AMDIS, учитывая абсолютное время удерживания, линейные индексы удерживания и масс-спектры ионов, сравнивая их с имеющимися собственными стандартами и сведениями из литературы (Ткачев, 2008 и др.). Линейные индексы удерживания считали по формуле: $J_x = J_n + 100k(t_{Rx} - t_{Rn}) / (t_{R(n+k)} - t_{Rn})$, где $J_n = 100n$ – индекс удерживания *n*-алкана, содержащего *n* атомов углерода, t_R – абсолютное время удерживания компонентов: t_{Rx} – время удерживания исследуемого компонента, $t_{R(n+k)} - t_{Rn}$ – время удерживания ближайших реперных *n*-алканов с числом атомов углерода, соответственно, *n* и *n* + *k*. Относительное количество компонента с содержанием не менее 0.01% в образце считали по площади пиков на хроматограмме, сумму площадей пиков (в пределах линейных индексов удерживания 700–1900) принимали за 100%, корректирующие коэффициенты не использовали. Количественные доли компонентов с перекрывающимися пиками считали исходя из интенсивности индивидуальных ионов.

Всего был выделен 81 отчетливый пик, из них определены 34 компонента, остальные приводятся под порядковыми номерами в соответствии со временем их удерживания на хроматограмме (табл. 1). Определяли процентное содержание каждого компонента в образце. Общими для всех деревьев обеих популяций были 22 компонента. Изменчивость содержания компонентов в популяциях оценивали по коэффициенту вариации (CV, %).

Полученные данные анализировали с помощью корреляционного, кластерного и многофакторного

анализов, в последнем случае использовали метод главных компонент (Ефимов, Ковалева, 2007). В анализ сопряженности не были включены компоненты (20 шт.), встречающиеся в выборках с частотой менее 5%. Так как распределение некоторых компонентов существенно отличалось от нормального, данные предварительно нормировали по формуле: $(x_{ij} - x_{\min}) / (x_{\max} - x_{\min})$. Популяции сравнивали между собой с помощью *F*-критерия для того, чтобы оценить повторяемость результатов, полученных на разных выборках деревьев, выросших в разных условиях. Достоверность коэффициентов корреляции оценивали с помощью *t_r* критерия.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения разнообразия природных терпеноидов иногда используют метод провокации – растения помещают в условия стресса, в которых синтезируются редкие для обычных условий компоненты (Племенков, 2001). Среди исследованных нами выборки дерева первой популяции (P1) находились в лучших, а второй (P2) – в худших почвенных и климатических условиях (на каменистых почвах, большего дефицита летних и зимних осадков, сильных иссушающих ветров). Комплексным индикатором условий служил бонитет насаждений.

Ранее было отмечено, что с ухудшением условий для роста у сосны обыкновенной увеличивается содержание более легких монотерпенов и сокращается доля сесквитерпенов (Фуксман и др., 1997), что подтвердили и наши исследования. Из табл. 1 видно, что при одинаковом числе выделенных в популяциях летучих компонентов хвои во второй популяции выше была не только общая относительная масса монотерпенов (соответственно 79.0 и 89.5%, различия достоверны при $F = 10.56$, $P < 0.000$), но и относительное содержание и разнообразие более легких соединений по сравнению с первой популяцией (на 7 компонентов из первых 26). Таким образом, в неблагоприятных условиях произрастания выше доля и разнообразие более легких монотерпенов, в благоприятных – более тяжелых сесквитерпенов, что вполне объяснимо их функциональным значением, так как первые преобладают в живице, вторые относятся к ростовым и аллелопатическим веществам. Суммарное индивидуальное относительное содержание монотерпенов у деревьев в двух популяциях характеризуется низким уровнем изменчивости, соответственно, – 4 и 9%, а содержание сесквитерпенов – высоким уровнем изменчивости (35 и 38%).

В известной нам отечественной и зарубежной литературе, посвященной изучению популяционной изменчивости и наследуемости содержания терпенов у хвойных растений, приводятся результаты сравнения географических популяций видов по значениям коэффициентов корреляции

Таблица 1. Компонентный состав легколетучих терпеноидов хвои в исследуемых популяциях сосны обыкновенной

№	J_x	Название (m/z)	Частота встречаемости, %		Относительное содержание, %	
			P1	P2	P1	P2
1	2	3	4	5	6	7
Монотерпены						
34	909	Трициклен	95.0	97.4	0.51–3.50	0.60–2.51
35	920	β -туйен	25.0	17.1	0.14–0.34	0.14–0.44
36	926	α -пинен	97.0	98.7	18.1–75.96	31.97–77.52
37	944	Камфен	97.0	98.7	1.38–11.14	2.26–7.87
38	977	Сабинен	49.0	34.2	0.11–0.82	0.06–0.89
39	979	β -пинен	97.0	98.7	1.03–13.60	1.33–10.72
40	1001	β -мирцен	95.0	98.7	0.69–3.17	0.78–2.77
41	1020	Δ^3 -карен	73.0	38.2	0.23–35.34	8.51–38.19
42	1028	α -терпинен	6.0	6.6	0.13–0.18	0.10–0.16
43	1041	Лимонен*	95.0	97.4	0.51–2.75	0.62–4.25
44	1056	β -транс-оцимен	14.0	28.9	0.11–0.18	0.10–0.15
45	1066	β -цис-оцимен	83.0	84.2	0.12–2.14	0.15–1.61
46	1075	γ -терпинен	34.0	23.7	0.13–0.39	0.19–0.41
48	1106	Терпинолен	88.0	81.6	0.18–3.20	0.13–3.15
50	1154	Камфора	2.0	–	0.10–0.13	0.0
51	1177	Борнеол	21.0	5.3	0.11–1.47	0.08–1.10
53	1303	Борнилацетат	60.0	75.0	0.14–1.75	0.10–1.88
Сесквитерпены						
54	1353	Бициклоэлемен	86.0	51.3	0.07–0.68	0.09–0.53
55	1365	α -кубебен	48.0	47.4	0.08–0.48	0.10–0.52
56	1390	Копаен	88.0	79.9	0.13–0.98	0.11–0.60
57	1399	β -боурбонен	38.0	43.4	0.08–0.84	0.11–0.55
58	1406	β -элемен	95.0	88.2	0.19–3.34	0.12–0.86
59	1436	Кариофиллен	95.0	94.7	0.32–8.67	0.39–4.62
60	1446	β -кубебен	41.0	27.6	0.08–0.44	0.09–0.20
61	1456	Лонгифолен	48.0	28.9	0.07–0.52	0.07–0.40
64	1492	β -копаен	9.0	7.9	0.07–0.52	0.07–0.13
65	1495	Кадинен	97.0	77.6	0.24–1.71	0.10–0.59
66	1500	Гермакрен	97.0	94.7	0.54–11.52	0.30–3.58
67	1505	β -селинен	89.0	81.6	0.14–1.26	0.09–0.75
69	1514	α -селинен	64.0	40.8	0.26–1.52	0.21–0.61
70	1516	Элемен	96.0	96.1	0.45–3.13	0.19–2.04
71	1519	α -мууролен	97.0	85.5	0.27–2.4	0.19–0.88
72	1533	γ -мууролен	97.0	94.7	0.48–5.51	0.28–2.64
73	1543	β -кадинен	97.0	98.7	1.10–10.86	0.43–5.14
Неидентифицированные компоненты						
1	723	41, 44, 51, 66, 78, 94	–	5.3	0.0	0.38–0.95
2	723	44, 55, 66, 78, 94, 168	3.0	5.3	0.42–0.74	0.63–1.05
3	748	44	97.0	98.7	0.14–4.12	0.52–21.51

Таблица 1. Продолжение

№	J_x	Название (m/z)	Частота встречаемости, %		Относительное содержание, %	
			P1	P2	P1	P2
1	2	3	4	5	6	7
4	750	44, 86	68.0	61.8	0.06–14.75	0.04–16.41
5	749	45	60.0	51.3	0.07–1.21	0.06–0.63
6	751	45, 46	7.0	5.3	0.17–0.62	0.08–0.12
7	751	44, 57	91.0	67.1	0.07–1.94	0.07–0.94
8	751	44, 45	2.0	1.3	0.07–1.94	0.23
9	753	76	–	1.3	0.25–0.4	0.08
10	755	44, 75	5.0	1.3	0.15–0.34	0.09
11	756	43, 86, 94	2.0	2.6	0.09–0.10	0.07–0.08
12	757	43, 57, 72, 86	–	6.6	0.0	0.03–0.13
13	758	43, 44, 60, 75, 186	11.0	7.9	0.05–0.37	0.07–0.68
14	758	41, 43, 53, 59, 71	29.0	25.0	0.05–1.43	0.05–2.48
15	759	43, 61, 70, 88	33.0	26.3	0.09–1.75	0.07–3.86
16	760	43, 45, 60	1.0	6.6	0.20	0.70–1.30
17	760	43, 45, 60	6.0	2.6	0.03–0.24	0.40–1.38
18	761	43, 45, 60	–	1.3	0.0	0.65
19	762	43, 44, 45, 60	–	2.6	0.0	0.14–1.85
20	764	44, 58, 71	5.0	5.3	0.04–0.16	0.03–10.61
21	768	43, 57, 67	15.0	22.4	0.03–0.12	0.05–0.15
22	769	55, 84	–	5.3	0.0	0.03–0.08
23	771	44, 57, 86	13.0	2.6	0.04–0.28	0.07–0.17
24	774	43, 44, 86	5.0	6.6	0.15–0.80	0.23–0.55
25	780	41, 55, 57, 70	9.0	–	0.07–0.40	0.0
26	792	41, 44, 55, 57, 68, 86	–	2.6	0.0	0.06–0.09
27	795	41, 53, 67, 71, 86	1.0	–	0.263	0.0
28	798	43, 45, 57, 75	5.0	–	0.37–0.52	0.0
29	803	41, 43, 45, 47, 57, 75	6.0	–	0.09–0.66	0.0
30	805	41, 44, 56, 72, 82	24.0	28.9	0.08–0.54	0.10–0.73
31	839	41, 55, 57, 69, 83, 98	29.0	35.5	0.11–0.92	0.19–1.08
32	842	41, 55, 67, 69, 82, 100	1.0	2.6	0.27	0.11–0.14
33	853	41, 43, 56, 69, 84	6.0	–	0.08–1.01	0.0
47	1104	41, 53, 67, 79, 91, 93, 105, 121, 136	2.0	2.6	0.10–0.15	0.09–0.11
49	1130	40, 65, 77, 91, 103, 122	1.0	–	0.24	0.0
52	1188	41, 43, 55, 69, 71, 93, 111, 121, 136, 154	1.0	–	0.54	0.0
62	1472	41, 53, 67, 80, 93, 107, 121, 147, 161, 189, 204	84.0	71.1	0.15–1.18	0.09–0.47
63	1481	41, 69, 77, 91, 105, 119, 135, 147, 161, 204	–	1.3	0.0	0.10
68	1511	41, 55, 69, 71, 91, 105, 119, 133, 161, 204	3.0	2.6	0.08–0.19	0.08–0.09
74	1551	41, 55, 69, 77, 91, 105, 119, 161, 204	–	1.3	0.0	0.10
75	1556	41, 81, 91, 105, 119, 161, 175, 189, 204	33.0	13.2	0.06–0.30	0.07–0.15
76	1593	41, 81, 91, 105, 119, 134, 161, 182, 204	85.0	76.3	0.12–2.88	0.12–1.66
77	1597	41, 55, 69, 81, 91, 105, 119, 133, 161, 189, 204	1.0	–	1.06	0.0

Таблица 1. Окончание

№	J_x	Название (m/z)	Частота встречаемости, %		Относительное содержание, %	
			P1	P2	P1	P2
1	2	3	4	5	6	7
78	1662	41, 43, 55, 69, 77, 81, 91, 95, 1105, 119, 134, 161, 189, 204	8.0	5.3	0.11–0.40	0.13–0.21
79	1676	41, 43, 55, 67, 71, 77, 81, 93, 95, 105, 109, 121, 133, 148, 161, 164, 189, 204	18.0	13.2	0.07–0.58	0.08–0.20
80	1843	57, 69, 83, 93, 109, 122, 133149, 161, 177, 191, 272	14.0	6.6	0.23–2.46	0.30–0.42
81	1845	41, 44, 55, 69, 81, 93, 109, 119, 133, 149, 161, 177, 191, 204, 257	–	1.3	0.0	3.55

Примечание. В столбцах 6 и 7 приведены пределы индивидуальных значений содержания соединений в популяциях P1 и P2; J_x – линейный индекс удерживания; m/z – числовые значения масс-спектров характерных ионов для неидентифицированных компонентов; * – лимонен + β -фелландрен.

между парами только небольшой группы (4–12) соединений (Meier, Goggans, 1978; Yazdani *et al.*, 1982; Hanover, 1992; Степень, 2000; Пляшечник, и др., 2011; Тараканов и др., 2012). В рекомендациях по использованию методов статистики в химии отмечается, что коэффициенты корреляции и регрессии чаще описывают не тесные функциональные зависимости, когда химик сталкивается с решением более сложных задач, включая определение трудно поддающихся анализу компонентов (Налимов, 1960; Дёрффель, 1994). Восполняя пробелы предыдущей нашей работы (Тихонова и др., 2014), отметим, что сделанные нами выводы о множественных корреляциях между выделенными компонентами, их структуре и предложения по применению полученных сведений оказались близки ряду исследований, использующих методы пространственного моделирования: в теоретической гистологии (Савостьянов, 2005), а также методы комбинаторной (алгебраической) топологии, – в анализе сложных химико-технологических процессов, в квантовой физике, программировании и автоматизации (Азаров и др., 1975; Кафаров, Дорохов, 1979; Хатчер, 2011). Выявление таких систем позволяет обоснованно разложить их на блоки и указать наиболее вероятные каналы их взаимодействия. Специфика их использования в химии заключается в том, что эти блоки могут быть не разграничены в реальном пространстве, их топология абстрактна. В этой связи перспективным также представляется использование подобного сравнительного анализа корреляций у близкородственных видов – от биологии к химии, и обратно.

После исключения редких для обеих популяций соединений (с частотой <5%) был проведен корреляционный анализ изменчивости содержания

59 компонентов в первой и 57 во второй популяции. При этом учитывали только наиболее тесные связи со значениями коэффициентов корреляции $r \geq 0.87$. Пороговое значение выбрано, исходя из уровня достоверности значений коэффициента корреляции ($p = 0.05–0.01$) для наиболее редких соединений из учтенных. Единственную мощную корреляционную плеяду в первой популяции образуют 58 соединений, 32 из них входят в “ядро” плеяды (в т. ч. 22 при $r = 0.99–1.0$). Все они коррелированы с признаком – индикатором плеяды под № 6 (не идентифицированный компонент). К некоторым из них присоединяются еще 26 дополнительных соединений. Таким образом из включенных в анализ соединений только 1 не вошло в состав плеяды – β -пинен. Большая часть терпеноидов внутри “ядра” плеяды тесно коррелируют не только с ключевым компонентом № 6, но и между собой, участвуя в образовании от 8 до 25 связей каждое, в их числе борнеол, α -кубебен, копаен, кадинен, β -селинен, α -селинен, γ -муролен, β -кадинен, лонгифолен и соединения под № 13, 20, 21, 23, 24, 25, 30, 33, 75, 78, 81. Большая часть компонентов “ядра” плеяды (25) характеризуется положительными значениями коэффициентов корреляции с ключевым, образующим плеяду соединением, в обратной связи с ним находятся только 6 терпеноидов (трициклен, камфен, сабинен, β -мирцен, Δ^3 -карен, соединение № 79). Из соединений, не входящих в “ядро” плеяды, наибольшее число связей (8–10) образуют компоненты № 10, 17, 29 и β -копаен (№ 64). Так графически выстраиваются основные плеяды в обеих популяциях (рис. 1), из-за сложности их изображения в 3 координатах, корреляционная структура признаков показана на плоскости, где один и тот же дополняющий компонент повторяется

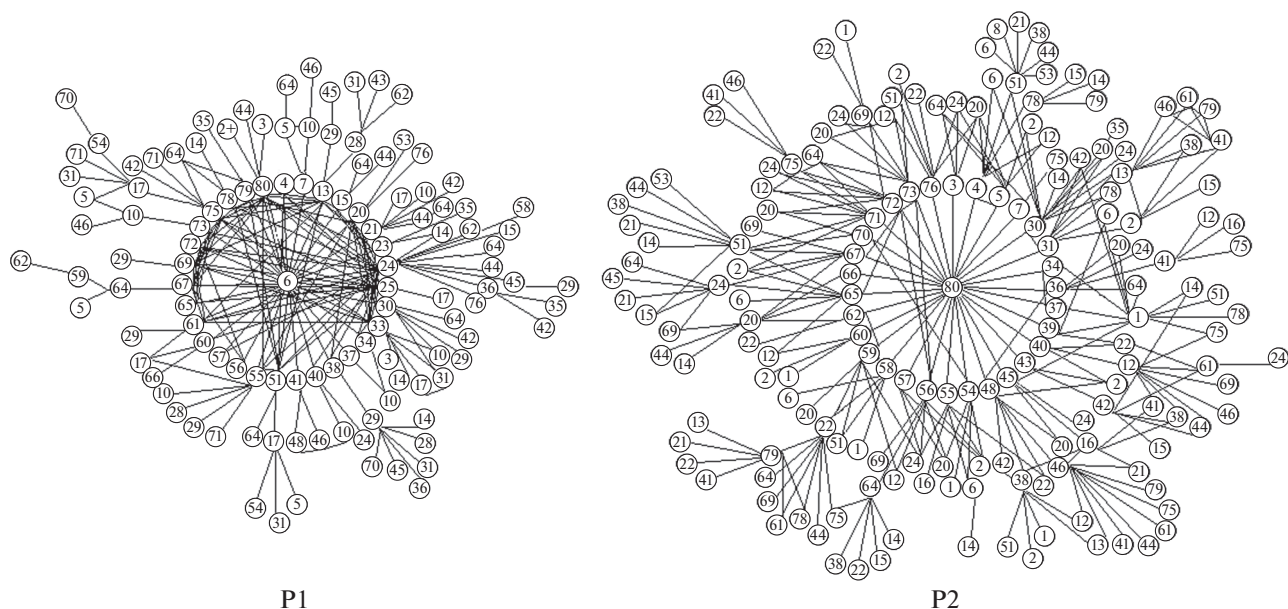


Рис. 1. Корреляционные плеяды легколетучих соединений хвои (номера) двух популяционных выборок сосны обыкновенной P1 и P2.

столько раз, сколько связей он образует относительно “ядра плеяды”.

Во второй популяционной выборке в плеяду вошли все 57 компонентов со значениями коэффициентов корреляции $r = 0.87-1.0$. “Ядро” плеяды образуют 31 соединение с признаком – индикатором под номером 80, его дополняют 26 соединений, 16 из которых связаны с 8–25 соединениями (№ 1, 2, 6, 12, 20, 22, 24, 62, 75, 78, Δ^3 -карен, α -терпинен, γ -терпинен, борнеол, лонгифолен, β -копаен). В “ядре” плеяды P2 большее число компонентов находится в обратной связи с признаком-индикатором – сесквитерпеном № 80 (это соединения № 4, 5, 7, 30, 31, α -пинен – № 36, α -кубебен – № 55, кариофиллен – № 59, элемен – № 70, соединение № 62).

При общем сходстве структуры и полноты плеяды, ее единственности, в первой популяции обращает на себя внимание большая простота конструкции: большая коррелированность “ядра” плеяды (три тесно связанных между собой группы: соединения № 20–33; борнеол–кариофиллен; сесквитерпены № 65–80), а также наличие меньшего числа “конгломератов” за пределами ядра плеяды (4). Причем внутри “ядра” плеяды все 5 соединений (№ 6, 24, 25, 33, 80), образующих наибольшее число связей (17–31), тесно и прямо коррелированы между собой. Корреляционная плеяда во второй популяции, наоборот, отличалась слабой коррелированностью между компонентами внутри “ядра” плеяды и более тесной – между всеми компонентами “ядра” плеяды и дополняющими ее соединениями. Соединения № 2, 12, 20 и 24, об-

разующие наибольшее число связей (18–30), оказались вне “ядра” плеяды, не связанными между собой и с ключевым компонентом № 80. На основании этого можно заключить, что у сосны обыкновенной во второй популяции наблюдается определенная децентрализация корреляционной структуры летучих терпеноидов (с сохранением общей плеяды) по сравнению с первой популяцией. Топологически первая плеяда P1 образует пирамиду с вершиной (соединение № 6) и 4-угольным основанием, включающим 31 соединение, к большей части из них прикрепляются 4 крупных и несколько более мелких групп соединений (анализу некоторых из них посвящена предыдущая наша работа, Тихонова и др., 2014). Вторая плеяда P2 также представляет собой двухсоставную пирамиду с вершиной (соединение № 80), промежуточным 4-угольным основанием (№ 20, 30, 72, 73), в пределах которого группируются 30 соединений “ядра” плеяды, и 8-угольным основанием второй части (№ 1, 2, 12, 22, 24, 75, борнеол, β -копаен), по бокам ее “закрепляют” несколько более мелких групп, ключевыми для которых являются сабинен, α -терпинен, γ -терпинен, лонгифолен, соединения № 6, 78 с числом коэффициентов корреляции 8–10 каждое. Отметим, что подобные корреляционные структуры, где все признаки входят в одну плеяду, редко можно наблюдать при исследовании морфологических и анатомических признаков деревьев, и только в худших условиях для роста (Тихонова, 2005), так как генотипические корреляции сильнее фенотипических (Ростова, 2002).

ках) и с сесквитерпенами (группа III) ($r = -0.91$ в P1 и $r = -0.35$ в P2). Соединения II группы отличаются меньшим числом связей с другими компонентами и устойчивостью связей внутри этой группы, например, между соединениями Δ^3 -карен, α -пинен, сабинен, α -терпинен, γ -терпинен, терпинолен (и борнеол во второй популяции), объясняющих 11% дисперсии в третьих главных компонентах в обеих популяциях. Из литературы известно, что характерной особенностью бициклических монотерпенов (туйен, α -пинен, камфен, Δ^3 -карен, борнеол, борнилацетат) является их способность к глубоким изменениям структуры, например, α -пинен легко превращается в большую часть соединений этой группы в присутствии органических кислот (Маркевич и др., 1987). Достоверные корреляции между соединениями в группе II отмечены и для других видов хвойных (Пляшечник и др., 2011), как и их взаимопревращения (Degenhardt *et al.*, 2010). Обратная связь между Δ^3 -кареном и α -пином отмечена во многих работах, посвященных изучению терпеноидов у сосны (Чернодубов, Ламоткин, 1990; Степень, 2000; Тараканов и др., 2012). В исследуемых популяциях величина коэффициента корреляции возрастает с ухудшением условий произрастания деревьев ($r = -0.61$ в P1 до $r = -0.90$ в P2, оба значения достоверны $t = 7.50$ и 17.64 , $p < 0.0001$). Сесквитерпены от бициклоэлемена и выше (компоненты № 54–80, III) положительно коррелированы между собой и с легкими терпеноидами (до соединения № 24, I) ($r = 0.59$ в P1). Эти корреляции в первой и второй главных компонентах объясняют 46% общей изменчивости признаков в P1 и 34% в P2. Учитывая, что в обеих популяциях вторая по молекулярной массе компонентов группа монотерпенов (II) преобладает среди всех терпеноидов (их суммарная масса составляет 74 и 83% соответственно), отрицательно коррелирована с соседними группами (коэффициент множественной корреляции $r_{xyz} = -0.99$) и каждая из групп внутри себя в целом коррелирована положительно, можно предположить, что: 1) у хвойных растений одновременно запускаются процессы группового синтеза соединений (трех крупных групп и множества мелких подгрупп); 2) каждая из групп может служить поставщиком для соседней группы; однако, наиболее вероятно, учитывая более тесные связи, преобразование компонентов 2-й группы монотерпенов (№ 34–51) в сесквитерпены либо более легкие терпеноиды. Очевидно, у растений существуют механизмы, позволяющие во много раз сэкономить время для образования необходимых наборов легколетучих соединений и быстрой реакции на внешние или внутренние раздражители. Этот процесс не хаотичный, имеет устойчивую структуру, в которой выделяются 3 взаимодействующих “блока”. Внутри “блоков” обнаруживаются более мелкие структуры,

подобные общей, их больше в выборке из второй популяции: в P1 выделяются 3 прямо связанных друг с другом компонента, характеризующихся широким и полным охватом всего имеющегося спектра соединений (№ 6, 24, 80), в P2 их 9, не связанных между собой (№ 2, 6, 12, 20, 22, 24, 51, 64, 80).

Необходимо отметить, что наблюдаемая нами “гроздьевидная” или “зонтичная” структура основной корреляционной плеяды вполне согласуется с некоторыми известными особенностями биогенеза терпеноидов, в частности, с изопреновым правилом синтеза групп терпеноидов через образование промежуточных соединений (Полтавченко, Рудаков, 1973; McGarvey, Croteau, 1995; Племенков, 2001), с таким явлением как “древо гермакрена” – большая группа модификаций одного соединения (Ткачев, 2008, С. 141), с установленными фактами синтеза множественных продуктов (более половины всех моно- и сесквитерпенов) одними и теми же терпен-синтазами благодаря особенностям структуры белка ферментов (Degenhardt *et al.*, 2010). Выявленные нами корреляции не только между кратно изопрену (C_5H_8) различающимися крупными группами соединений (2 изопреновые группировки образуют монотерпены, три – сесквитерпены) или изомерами одного соединения, но и внутри групп монотерпенов и сесквитерпенов, свидетельствуют о наличии разнообразных реакций взаимопревращений внутри этих групп или конкуренции между ними за один субстрат (отрицательные связи), а также об одновременном синтезе (положительные связи) большого числа сходных наборов соединений у разных особей популяции, что подтверждают высокие коэффициенты корреляции внутри плеяды. Отсутствие β -пинена в плеяде первой популяции, с одной стороны, может объясняться его образованием в хлоропластах, где протекает альтернативный “метил-4-фосфатный” путь биогенеза терпенов (основной “мевалонатный” путь осуществляется на наружной мембране оболочки митохондрий и ядра, в цитозоле, пероксисомах и эндоплазматическом ретикулуле) (Meier, Goggans, 1978; Pallardy, 2008; Degenhardt *et al.*, 2010; Pulido *et al.*, 2012), с другой, – его чувствительностью к условиям спектрометрического анализа и частичным преобразованием в α -пинен (Ткачев, 2008). В литературе приводятся результаты экспериментов, доказывающих сопряженность процессов синтеза соединений, отнесенных нами ко второй группе, с освещением и фотосинтезом, на основании чего выдвинуто предположение о синтезе этих соединений не в митохондриях, а в хлоропластах (Loreto *et al.*, 1996; Degenhardt *et al.*, 2010), т. е. группы II и I, III могут быть разделены в пространстве. Косвенно это также подтверждается сведениями о зависимости содержания монотерпенов от прозрачности атмосферы (Коломиец и др.,

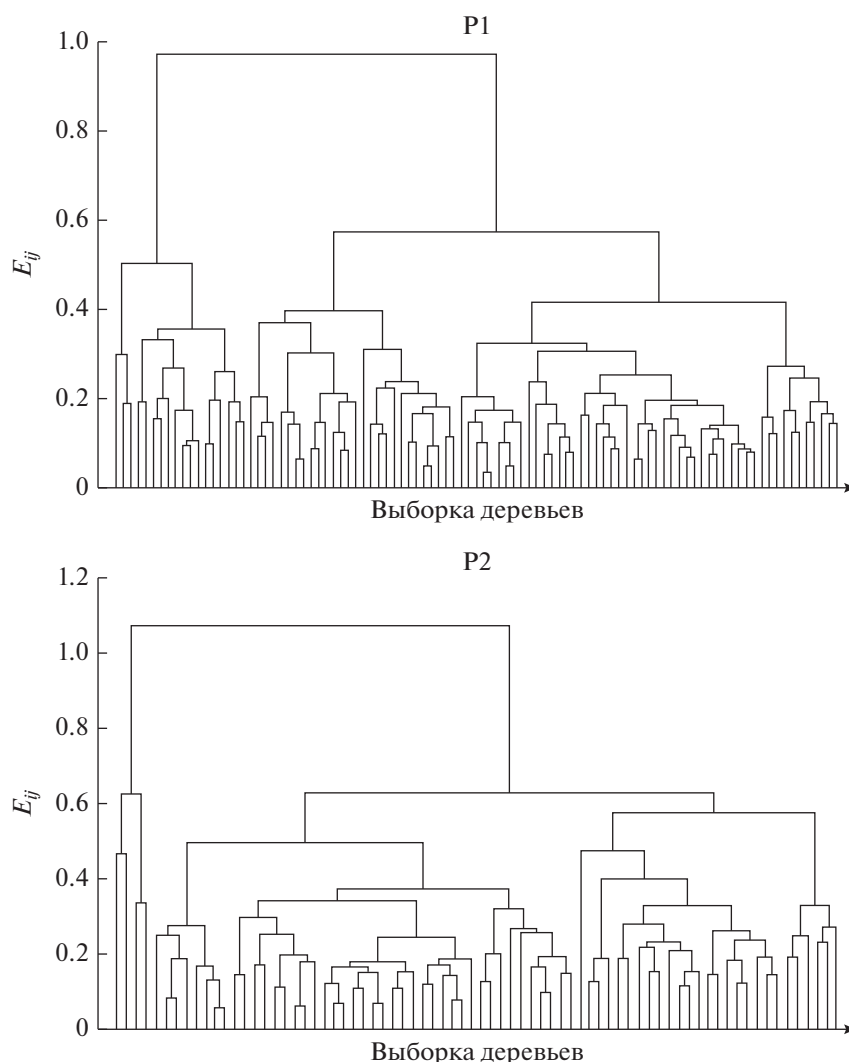


Рис. 3. Дендрограмма сходства особей внутри выборок P1 и P2 по соотношению групп легколетучих компонентов хвои деревьев: по оси x – деревья, по оси y – Евклидово расстояние.

2019). Однако, на наш взгляд, образование терпенов из продуктов фотосинтеза может протекать и в митохондриях, их локализация в хлоропластах пока не доказана. Усилением роли альтернативного “метил-4-фосфатного” превращения терпенов, участием большего числа обходных путей синтеза и преобразования соединений, вероятно, можно также объяснить особенности строения корреляционной плеяды в популяции P2. По-видимому, 9 наиболее сопряженных компонентов в P2, в первую очередь, вовлекаются в реакции, приводящие к появлению многих других терпеноидов, и на их основе осуществляется пополнение состава терпеноидов. Благодаря этому может сокращаться время на образование необходимых для жизнедеятельности деревьев в данных условиях роста компонентов. Подобный анализ, проведенный на тех же выборках деревьев в начале вегетационного сезона, либо в других экологиче-

ских условиях, возможно, позволил бы получить сведения и о других компонентах.

С помощью кластерного анализа оценивали структуру индивидуального разнообразия популяций по относительному содержанию и разнообразию трех групп легколетучих соединений хвои (I–III). В двух популяциях выборки подразделяются, соответственно, на 4 и 3 кластера при $E_{ij} = 0.97–0.42$ (P1) и $1.08–0.65$ (P2). Небольшую часть выборок составляют деревья с высоким разнообразием и содержанием редких терпеноидов I и III групп: в P1 и P2 соответственно, 19% и 6% деревьев (рис. 3, табл. 2). Следующие 2 кластера, включающие большую часть выборок, характеризуются постепенным уменьшением массы и числа компонентов в этих группах. Последний 4-й кластер в P1 образуют 11% деревьев с невысокой относительной массой компонентов I и III групп,

Таблица 2. Краткая характеристика кластеров в двух популяциях сосны обыкновенной

Кластер E_{ij}	Доля деревьев в выборке, %	Относительная масса компонентов группы, %			Среднее число компонентов внутри группы		
		I	II	III	I	II	III
P1							
1 $E_{ij} = 0.97$	19	15.7	54.1	29.6	6.9	9.0	16.0
2 $E_{ij} = 0.57$	29	5.7	70.4	23.5	4.5	9.3	16.4
3 $E_{ij} = 0.42$	41	2.1	84.4	13.2	3.7	10.7	16.5
4 $E_{ij} = 0.42$	11	7.9	76.8	15.2	7.8	10.6	16.9
P2							
1 $E_{ij} = 1.17$	6	13.3	67.6	18.9	7.0	8.8	17.5
2 $E_{ij} = 0.65$	36	9.0	80.1	10.8	6.7	9.1	15.2
3 $E_{ij} = 0.65$	58	2.7	87.6	9.8	2.4	9.2	13.2

Примечание. E_{ij} – Евклидово расстояние.

но наибольшими показателями их разнообразия. В выборках P1, ограниченных деревьями 1 и 4 кластеров с наиболее полным составом терпеноидов, коэффициенты корреляции между тремя группами соединений увеличились до $r_{I, II} = -0.89$, $r_{II, III} = -0.96$, $r_{I, III} = 0.67$ по сравнению с приведенными выше значениями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о существовании тесной сопряженности всего состава легколетучих терпеноидов в хвое сосны обыкновенной и, соответственно, процессов их взаимопревращений. Они образуют единственную мощную корреляционную плеяду в виде октаэдра с двумя ключевыми компонентами на “входе” и “выходе”, внутри которой выделяются группы более тесно связанных компонентов, коррелирующих между собой. В неблагоприятных условиях произрастания связи между ними ослабевают, изменяется корреляционная структура, но единство плеяды сохраняется. При этом в несколько раз увеличивается число соединений, образующих связи по всему спектру терпеноидов. Предположительно, с их участием протекают реакции, приводящие к появлению многих других необходимых для жизнедеятельности деревьев терпеноидов. Эти, не идентифицированные нами компоненты, после уточнения молекулярного строения могут быть использованы в качестве ин-

дикаторов вовлечения тех или иных биохимических реакций в процессы адаптации деревьев.

С помощью метода главных компонент внутри плеяд обеих популяций выделены 3 устойчивых “блока”: I – легкие компоненты до трициклена, II – монотерпеноиды от трициклена до кислородосодержащего борнеола, III – сесквитерпеноиды. Внутри “блоков” обнаруживаются более мелкие структуры, подобные общей. Терпены II группы отрицательно коррелированы с компонентами смежных групп. Обратные связи между ними, как и корреляции терпенов внутри II группы, объясняют 54–64% дисперсии содержания наборов компонентов внутри выборок. Особенности корреляционной структуры признаков свидетельствуют о том, что у хвойных растений могут одновременно запускаться процессы группового синтеза соединений, бициклические компоненты 2-й группы монотерпенов (туйен, α -пинен, Δ^3 -карен, камфен и др.), по-видимому, служат субстратом для образования соединений соседних групп.

Небольшую часть исследованных выборок составляют деревья с высоким разнообразием и содержанием более редких терпеноидов. Внутри этой выборки деревьев коэффициенты корреляции выше, чем в общей выборке. Отмечена тесная ($r = |0.91-0.95|$) корреляция Δ^3 -карена с α -пиненом (отрицательная), а также с γ -терпиненом и терпиноленом (положительная). Отметим, что в

“ядро” корреляционной плеяды в первой популяции входит Δ^3 -карен, а во второй – α -пинен. Последний коррелирует с суммарным содержанием трех перечисленных соединений в обеих выборках ($r = -0.58$ и -0.82). Поэтому для пополнения списка селективно значимых для сосны обыкновенной признаков предлагается проверить уровни наследуемости большего числа монотерпенов II группы, а также суммарное содержание компонентов, входящих в I, II и III группы терпеноидов и их соотношение.

Так как не все соединения определяются с помощью масс-спектрометрии и отдельные важные промежуточные компоненты могут ускользнуть от внимания исследователей, неизвестно строение всех соединений, поэтому с помощью данных методов и предлагаемого подхода можно рассматривать только общую структуру, соотношение групп терпеноидов, отдельные корреляции. Таким образом, не только методы химического анализа могут применяться в биологии, но и методы популяционной биологии могут быть полезны химикам, в том числе, используя межвидовые сравнения в филогенетических рядах. Общее представление о структуре биохимических признаков имеет важное значение для лучшего понимания объекта исследований и уточнения направления поисков, например, в разработке подобных конструкций с целью искусственного синтеза новых соединений или их смесей.

Благодарности. Автор выражает признательность Анискиной А.А. (ИЛ СО РАН) за помощь в работе.

Финансирование. Работа выполнена в рамках бюджетного проекта ФГБНУ ЗСО ИЛ СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН (проект № 0287-2021-0009, Рег. НИОКТР № 121031500336-9) на оборудовании Красноярского регионального центра коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Азаров В.Л., Лупичев Л.Н., Тавризов Г.А. Математические методы исследования сложных физических систем. М.: Наука, 1975. 342 с.
- Дёрффель К. Статистика в аналитической химии: пер. с нем. М.: Мир, 1994. 268 с. [Doerffel K. Statistik in der analytischen Chemie. Leipzig: Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, 1990. 236 s. <https://doi.org/10.1002/zfch.19900301119>].
- Домрачев Д.В., Карпова Е.В., Горошкевич С.Н., Ткачев А.В. Сравнительный анализ летучих веществ хвои пятихвойных сосен Северной и Восточной Евразии // Химия растит. сырья. 2011. № 4. С. 89–98.
- Ефимов В.М., Ковалева В.Ю. Многомерный анализ биологических данных. Горно-Алтайск: РИО Горно-Алтайск. Госун-та, 2007. 75 с.
- Кафаров В.В., Дорохов И.Н. Системный анализ процессов химической технологии: Топологический принцип формализации. М.: Наука, 1979. 394 с.
- Коломиец Н.Э., Абрамец Н.Ю., Бондарчук Р.А., Ширеторова В.Г., Тыхеев Ж.А., Агеева Л.Д. Компонентный состав эфирного масла почек *Pinus sylvestris* L., произрастающей в урбоусловиях Томского района // Химия растит. сырья. 2019. № 1. С. 181–190. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2019014293>
- Кузьмин С.Р., Анискина А.А., Пермякова Г.В. Летучие вещества в хвое сосны обыкновенной с разной устойчивостью к грибным патогенам в условиях географических культур // Лесоведение. 2020. № 4. С. 346–356. <https://doi.org/10.31857/S0024114820030079>
- Ламоткин С.А., Шпак С.И., Скаковский Е.Д., Гайдукевич О.А., Тычинская Л.Ю., Ламоткин А.И., Рыков С.В., Котов А.А. Анализ состава эфирных масел хвои сосен различных видов // Биополимеры, биосистемы и биомедицинские объекты. М.–Йошкар-Ола: МарГТУ, 2008. С. 120–121.
- Маркевич Р.М., Ламоткин А.И., Резников В.М. Развитие взглядов на механизм превращений α -пинена в условиях кислотного катализа // Химия древесины. 1987. № 1. С. 3–20.
- Налимов В.В. Применение математической статистики при анализе вещества. М.: Физматгиз, 1960. 430 с.
- Пентегова В.А., Дубовенко Ж.В., Ралдугин В.А., Шмидт Э.Н. Терпеноиды хвойных растений. Новосибирск: Наука СО, 1987. 97 с.
- Племенков В.В. Введение в химию природных соединений. Казань: КазГУ, 2001. 376 с.
- Пляшечник М.А., Анискина А.А., Лоскутов С.Р. Сезонное изменение соотношения монотерпенов хвои *Picea obovata* (Pinaceae) // Растит. ресурсы. 2011. Т. 47. № 1. С. 80–86.
- Полтавченко Ю.А., Рудаков Г.А. Эволюция биосинтеза монотерпенов в семействе сосновых // Растит. ресурсы. 1973. Т. 9. Вып. 4. С. 481–493.
- Ростова Н.С. Корреляции: структура и изменчивость. СПб.: Изд-во СПб. Ун-та, 2002. 308 с.
- Савостьянов Г.А. Основы структурной гистологии. Пространственная организация эпителиев. СПб.: Наука, 2005. 375 с.
- Степень Р.А. Хемотипы Красноярской популяции сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) // Сибирский экол. журн. 2000. № 6. С. 705–709.
- Тараканов В.В., Ткачев А.В., Кальченко Л.И., Ефимов В.М., Роговцев Р.В. Изменчивость состава терпентинных масел хвои и устойчивость клоновых плантаций и географических культур сосны в Западной Сибири // Интерэкспо Гео-Сибирь. 2012. Т. 4. С. 115–122.
- Тихонова И.В. Морфологические признаки пыльцы *Pinus sylvestris* L. в связи с состоянием деревьев в сухой степи // Лесоведение. 2005. № 1. С. 63–69.
- Тихонова И.В., Анискина А.А., Лоскутов С.Р. Коррелированность содержания легколетучих соединений хвои в популяционных выборках сосны обыкновенной на юге Сибири // Экология. 2014. № 4. С. 257–264. <https://doi.org/10.1134/S1067413614040122>

- Тихонова И.В., Анискина А.А., Мухортова Л.В., Лоскутов С.Р. Индивидуальная изменчивость состава летучих выделений хвои сосны обыкновенной в популяциях Хакасии и Тувы // Сибирский эколог. журн. 2012. № 3. С. 397–405.
https://doi.org/10.1134/S1995425512030171
- Ткачев А.В. Исследование летучих веществ растений. Новосибирск: Офсет, 2008. 969 с.
- Фуксман И.Л., Шредер С.М., Канючкова Г.К., Чиненова Л.А., Пойхалайнен Я. Физиолого-биохимическая индикация состояния сосны обыкновенной в связи с воздействием промышленных поллютантов // Экология. 1997. № 3. С. 213–217.
- Хатчер А. Алгебраическая топология: пер. с англ. М.: МЦНМО, 2011. 688 с.
- Чернодубов А.И., Дерюжкин Р.И. Эфирные масла сосны: состав, получение, использование. Воронеж: Изд-во ВГУ, 1990. 112 с.
- Чудный А.В., Проказин Е.П. Географическая изменчивость состава терпентинных масел сосны обыкновенной на территории СССР // Растит. ресурсы. 1973. Т. 9. № 4. С. 494–503.
- Юмадилов Н.Х., Адлер Э.М., Рошаль И.Д., Тимирьянов А.Ш. Хемотипы популяции сосны обыкновенной в Башкирии // Растит. ресурсы. 1991. Т. 27. № 2. С. 67–73.
- Degenhardt J., Kollner T.G., Gershenzon J. Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants // *Phytochem.* 2010. V. 70. P. 1621–1637.
https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.07.030
- Hanover J.W. Applications of terpene analysis in forest genetics // *New Forests.* 1992. № 6. P. 159–178.
10.1007/978-94-011-2815-5_9
- Loreto F., Ciccioli P., Cecinato A., Brancaleoni E., Frattoni M., Fabozzi C., Tricoli D. Evidence of the photosynthetic origin of monoterpenes emitted by *Quercus ilex* L. leaves by ¹³C labeling // *Plant Physiol.* 1996. V. 110. P. 1317–1322.
https://doi.org/10.1104/pp.110.4.1317
- McCreath S.B., Delgoda R. Pharmacognosy: fundamentals, applications and strategies. London, 2016. 687 p.
- McGarvey D.J., Croteau R. Terpenoid metabolism // *The Plant Cell.* 1995. V. 7. P. 1015–102.
https://doi.org/10.1105/tpc.7.7.1015
- Meier R.J., Goggans J.F. Heritability and correlations of the cortical monoterpenes of Virginia pine (*Pinus virginiana* Mill.) // *Silvae genet.* 1978. V. 27. № 2. P. 79–84.
- Pallardy S.G. Physiology of woody plants. Amsterdam; Boston: Academic Press, 2008. 454 p.
- Pulido P., Perello C., Rodriguez C.M. New insights into plant isoprenoid metabolism // *Molec. Plant.* 2012. V. 5. № 5. P. 964–967.
https://doi.org/10.1093/mp/sss088
- Yazdani R., Rudin D., Alden T., Lindgren D., Harbom B., Ljung K. Inheritance pattern of five monoterpenes in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) // *Heredity.* 1982. V. 97. P. 261–272.
https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1982.tb00879.x

On the Possibility of Studying the Processes of Interconversion of Volatile Compounds of Needles on the Basis of Static Data

Ir. V. Tikhonova[#]

West Siberian of the V.N. Sukachev Institute of Forest – Branch of the Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center of SB RAS”, Jukovskogo, 50/28, Novosibirsk, 630082 Russia

[#]e-mail: azimut360@mail.ru

The results of the studying of the population structure of biochemical traits (a large number of volatile needle terpenoids) on large samples of Scots pine trees are presented. Data were analyzed using correlation, cluster and principal component analysis. Significant conjugation of the content of all isolated needle compounds was established. The features of the correlation structure of terpenoids indicate that the processes of their group synthesis can simultaneously be triggered in plants. It is concluded that it is possible to use static data obtained on large samples of coniferous trees for a preliminary study of the processes of interconversions of terpenoid compounds, which are characterized by high reactivity and the complexity of their study by chemical methods.

Keywords: correlation structure, populations, terpenoids, interconversion processes, Scotch pine