ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ВСЕРОССИЙСКИЙ ИНСТИТУТ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ ИМЕНИ Н.И.ВАВИЛОВА» (ВИР)

На правах рукописи

Кушнарева Александра Владимировна

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД

научно-квалификационной работы (диссертации)

Адаптивный и продуктивный потенциал и его связь с химическим составом семян у люпина узколистного (Lupinus angustifolius L.) в Ленинградской области

Направление 06.05.01 Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

Направленность (профиль) 06.06.01 Биологические науки

Санкт-Петербург, 2022 г.

Научный	Вишнякова Маргарита Афанасьевна,
руководитель:	
	доктор биологических наук, профессор, руководитель и главный научный сотрудник отдела генетических ресурсов зерновых бобовых культур Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова».
	(подпись)
Рецензенты:	
	Попов В. С.
	(Ф.И.О., ученая степень, звание, должность)
	(подпись)
	Егорова Г. П.
	(Ф.И.О., ученая степень, звание, должность)

(подпись)

Введение

Люпин узколистный (*Lupinus angustifolius* L.) – зернобобовая культура, в настоящее время преимущественно

сидерального и кормового назначения, за счёт биохимического состава перспективная для

использования в пищевой и фармацевтической промышленности. В промышленных масштабах люпин узколистный производится в Австралии, Франции, Соединённых Штатах, в Польше и РФ (Никонович и др., 2017).

Известные достоинства люпина узколистного в сравнении с другими видами рода Lupinus — люпином жёлтым и люпином белым — скороспелость, большая семенная продуктивность по отношению к желтому люпину, приуроченность к сравнительно северным регионам, способность расти на кислых песчаных почвах с дефицитом азота и фосфора. Устойчивое семеноводство культуры возможно в регионах с суммой активных температур 1900°С за вегетационный период, поэтому северная граница его производственного ареала в Европейской части РФ проходит по 58° с.ш. (Купцов, Такунов, 2006).

В белках зернобобовых культур присутствуют все аминокислоты, необходимые для сбалансированного питания, причём в люпине их содержание повышено по сравнению с другими зернобобовыми культурами, как и общее содержание белка в семенах в процентах от сухой массы (Никонович и др., 2017). При этом содержание характерных для бобовых антипитательных компонентов, препятствующих полноценному усвоению белка, в люпине снижено (Красильников и др., 2010). В опытах на лабораторных животных было отмечено, что диета, в которой в качестве источника белка использовались горох или соя, приводит к негативным последствиям для поджелудочной железы, которые не регистрируются, если в качестве источника белка использован люпин (Grand et al., 2013).

Существующее в настоящее время разнообразие узколистного люпина характеризуется полиморфизмом по содержанию алкалоидов — низкомолекулярных вторичных метаболитов, предположительно

выполняющих в растении защитную функцию, ядовитых для человека и сельскохозяйственных животных. Высокое содержание этих веществ в большинстве существующих образцов узколистного люпина делает невозможным их применение

В

пищевых и кормовых целях, несмотря на значительное содержание ценных питательных

веществ в семенах и зелёной массе. Одно из современных исследований польских учёных, изучивших 329 коллекционных образцов, зафиксировало разброс содержания алкалоидов в семенах люпина узколистного от 0,0005% до 2,8752 % (Kamel et al., 2016). В настоящее время пороговым значением содержания алкалоидов в семенах сортов, предназначенных для пищевого и кормового назначения, в ряде стран Европы и в Австралии считается не более 0,02% их сухой массы (Frick, 2017).

Из литературных данных известно, что в составе растительных тканей *L.* angustifolius выявлено до 120 алкалоидов. Доминирующий среди них - люпанин (50-70% от суммы алкалоидов), примерно 12-30% и 10% соответственно приходятся на долю гидроксилюпанина и ангустифолина (Frick et al., 2017). Минорные алкалоиды люпина, такие как изолюпанин, пахикарпин и матрин - химические модификации указанных выше алкалоидов (Wink, 1987).

Задачами современной селекции люпина является поиск

генетического материала для выведения низкоалкалоидных и одновременно устойчивых к

факторам среды образцов пищевого и кормового назначения.

Для дальнейшей успешной селекции пищевого люпина на Северо-Западе РФ необходим поиск генетического

материала среди сортов, наиболее продуктивных в климатических условиях

Ленинградской области, обладающих высоким содержанием питательных веществ и пониженным содержанием алкалоидов. Для оптимального использования данной культуры также важно знание динамики накопления алкалоидов в зелёной массе и семенах люпина узколистного в зависимости от стадии развития и факторов среды.

Таким образом, актуальность изучения разнообразия генофонда люпина узколистного по содержанию в семенах вторичных метаболитов, главными из которых являются алкалоиды, их качественного состава, динамики накопления в растении в процессе вегетации представляется актуальным как в научном, так и в народнохозяйственном отношениях.

Обзор литературы

Изначально основные усилия селекционеров были направлены на улучшение сидерационных свойств и повышение азотфиксации, поэтому ранние селекционные сорта люпина узколистного (Беняконский 335, Сидерат 32, Муженек, Миt 1 и др.) были преимущественно высокоалкалоидными. Сорта, предназначенные для сидерации, обладают высокой вегетативной массой и, как правило, невысокой семенной продуктивностью.

Селекция люпина для создания сортов пищевого и кормового использования берёт свой начало с 20-х гг. XX века, когда были получены и описаны первые низкоалкалоидные мутанты *L.angustifolius* (Sengbusch, 1931). Получение этих сортов и и определение рецессивных мутаций, детерминирующих признак низкого содержания алкалоидов (Hackbarth, Troll, 1956), ознаменовало революцию в селекции люпина. Селекционные работы позволили снизить содержание алкалоидов в семенах *L. albus, L. luteus* и *L. angustifolius* с 1-3 % до 0,02% и менее (Романчук, Анохина, 2018).

В настоящее время наиболее интенсивное изучение люпина узколистного ведётся в России: Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Всероссийский НИИ люпина, НИИ сельского хозяйства ЦРЗН), Беларуси (Институт земледелия и селекции НАН Беларуси, Белорусская ГСХА), Австралии (Департамент сельского хозяйства Западной Австралии, Сельскохозяйственный институт штата Новый Южный Уэльс), Польше (отдел Пшебендово учреждения селекции растений Смолице, селекционная станция Вятрово). Коллекция люпина узколистного ВИР насчитывает 887 образцов из 26 стран мира. Из них сортов научной селекции – 261, селекционного материала – 370, местных сортов – 142, диких форм – 55, образцов с неопределенным статусом – 50 (Vishnyakova et al., 2021). Следует отметить, что ~90 лет – очень небольшой срок для возделывания пищевой культуры (для сравнения, история возделывания культурной сои насчитывает более 6000 лет), и процесс внедрения данного вида в культуру нельзя считать завершённым – возможно, его потенциал к настоящему времени раскрыт не полностью.

В настоящее время известна химическая структура алкалоидов люпина и путь их биосинтеза в растениях. Алкалоиды люпина относятся к группе хинолизидиновых (ХА), в основе структуры их молекулы – одно или два конденсированных хинолизидиновых ядра (рис. 1, 2). Начальным соединением в пути синтеза является незаменимая для человека аминокислота лизин. Под действием лизин-карбоксилазы лизин превращается в кадаверин, который переходит в пиперидин. Далее по мере вступления в синтез различных функциональных групп происходят дальнейшие преобразования и формируются конечные продукты синтеза ХА, а также их транспортные и запасные формы предположительно в виде эфиров (Yang et al., 2017). Алкалоиды, как и промежуточные продукты их биосинтеза, образуются на всех стадиях развития растения с разной степенью интенсивности.

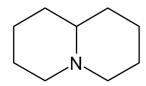


Рис. 1 Структурная формула хинолизидина — структуры, лежащей в основе молекулы XA.

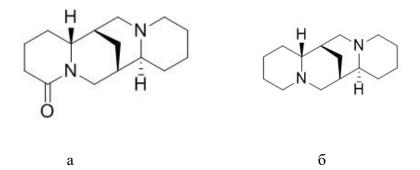


Рис. 2 Химическая структура ХА: люпанин (а), спартеин (б).

Рис 3. Схема биосинтеза алкалоидов в люпине узколистном.

Содержание алкалоидов в разных частях растения меняется в течение вегетационного периода и сильно зависит от факторов внешней среды. Показано, что в семенах одного и того же генотипа в разных условиях концентрация алкалоидов может изменяться не менее, чем в два раза, достигая десятикратного увеличения, превышая при этом требуемый уровень допустимого содержания алкалоидов в пищевом сырье и превращая сорта, традиционно относимые к низкоалкалоидным, в высокоалкалоидные (Cowling, Tarr, 2004; Reinhard et al., 2006; Romanchuk, Anokhina, 2018).

Закономерности процесса накопления алкалоидов в зависимости от факторов среды изучены крайне мало. Известно, что пик накопления алкалоидов в тканях *L. angustifolius* приходится на фазу цветения, а к концу периода вегетации наибольшее количество алкалоидов сосредоточено в семенах и корнях (Maknickiene et al., 2013). В работах Muth et al (2009) показано повышение содержание алкалоидов в ответ на биотический стресс. Известно, что первые низкоалкалоидные селекционные образцы люпина показывали малую устойчивость к фитофагам.

Показана роль алкалоидов в защите от насекомых-фитофагов – содержание алкалоидов повышается в ответ на раздражение растения насекомым, при этом растения с изначально повышенным уровнем алкалоидов менее подвержены их атакам (del Pilar Vilariño, Ravetta, 2008).

Знание динамики накопления алкалоидов в зеленой массе и в семенах люпина узколистного важно для его оперативного и оптимального использования в процессе вегетации. Решить эти задачи, а также более глубоко изучить биохимические различия у контрастных групп растений (высокоалкалоидных и низкоалкалоидных форм) помогает использование метаболомного профилирования растений.

Цели и задачи исследования

Цель — оценка генофонда узколистного люпина из коллекции ВИР в условиях Ленинградской области по продуктивности, адаптивности и качеству семян (содержанию алкалоидов).

Задачи:

- 1. Проведение полевого эксперимента по оценке образцов люпина узколистного различного происхождения из коллекции ВИР.
- 2. Биохимический анализ выращенных образцов люпина на содержание вторичных метаболитов (алкалоидов) и питательных веществ, выявление метаболомных профилей высоко- и низкоалкалоиных образцов.

Материалы и методы

Для полевого эксперимента на основе анализа паспортной базы данных коллекции люпина узколистного ВИР была создана репрезентативная выборки образцов люпина из 100 образцов. На репрезентативность выборки для анализа указывают максимально возможное разнообразие по географическому происхождению, по направлениям использования, по степени содержания алкалоидов, селекционному статусу и морфологическим особенностям растений. Степень содержания алкалоидов у большинства образцов коллекции известна приблизительно, т.к. ее определяли разработанным в 1960-х годах экспресс-методом полевой оценки образцов посредством реактива Драгендорфа (Панкина, Борисова, 2016), который дает основание относить образцы к разрядам высоко-, средне- и низкоалкалоидных без количественных показателей концентрации алкалоидов. Географическое происхождение образов отображает регионы возделывания культуры.

Большая часть образцов происходит из основных стран, производящих люпин: России, Белоруссии, Германии и Польши (табл. 1).

Таблица 1. Список образцов люпина узколистного из коллекции ВИР, взятых в работу в настоящем исследовании.

№ каталога ВИР	Название	Происхождение	Год репродукции
		УССР Черниговская	
96		губ.	2015
140		Шотландия	2014
3847	ПРАЛЕСКА	Беларусь	2016
331		Ирландия	2016
511		Испания	
372		Алжир	2016
1342	РОЗОВЫЙ 399	Беларусь	2015
1344	C-63	Россия	2016
1351	МУЖИН БЕЛЫЙ (№727)	Польша	2015
1405	T-2	Латвия	2015
1406	T-3	Германия	2015
1413	T-15	Германия	2016
1481	СИНИЙ АЛКАЛОИДНЫЙ N1	Украина	2014
1526	МЕСТНЫЙ	Украина	2017
1534		Литва	2014
1546		Франция	2017
1586	ST 238	Германия	2017
1593	BORRE	Швеция	2016
1613	BLAUE SUSSLUPINEN	Германия	2016
1685	GRAF SCHWERIN ROTE	Германия	2017
1977	G 78	США	2014
1981	НЕМЧИНОВСКИЙ 846	Россия	2018
2089	RABAT 402	Венгрия	2015
2121	LA1	Польша	2017
2183	IGRIS	Польша	2014
2248	№104	Россия	2016
2265	VIETEJE AILE	Латвия	2014
2438	12-65-3-M (BITTER)	Великобритания	2015
2439	12-652(10)M (BITTER)	Великобритания	2016
2444	12-65-M-1-4	Великобритания	2017
2446	P.S.Q. OSTSAAT BLAUE		2013
3565	STEVENS	ЮАР	2016
2570	MIRELA	Польша	2012
2662	EMIR	Польша	2015
2666	APENDRILON	Греция	2014

2683	ВАДА-13	Беларусь	2017
2803	MUT-1	Польша	2016
2831	ЛАФ-РБС/2	Беларусь	2016
2856	AFRICA DE SUC	Африка	2016
2868	LUP 155/80	Франция	2014
2949	ДАНКО	Беларусь	2017
3048	81 A/105-3	Австралия	2016
3059	GUNGURRU	Австралия	2016
3062	75 A/327	Австралия	2016
3064	75 A/330	Австралия	2016
3065	75 A/331	Австралия	2016
3121	ST. TREB1	Германия	2017
3748	WONGA	Австралия	2015
3947	БСЩ 15-14	Россия	2017
3456	GS 178D	Испания	2017
3627	ДИКАФ-1		2016
3327	ТИМИРЯЗЕВСКИЙ 2	Россия Россия	2016
3607	NS 028 B	Испания	2016
3628	ДИКАФ-11	Россия	2015
3814	ОЛИГАРХ	Россия	2014
3805	BEKTOP	Россия	2016
3172	ГЛ-396	Беларусь	2015
3426	ANATOLIA 30	Турция	2016
3605	SCHLOETENITZER ROTE	Германия	2016
3623	18 86A250-2-4 EX LR2	Австралия	2017
3563	ROMMEL	ЮАР	2012
3503	МУТАНТ 2	Россия	2016
3528	БСХА-506	Беларусь	2017
3922	ЛИПЕНЬ	Беларусь	2017
3556	GRC-5060A	Греция	2015
3562	SLAPSKA	Чехословакия	2016
3526	БСХА-490	Беларусь	2016
3502	L-155	Польша	2016
3457	GRC-5008 A	Греция	2017
3455	G 077	Италия	2011
3373	SUR	Польша	2016
3608	ROEMERS ROSABLUECHEN	Германия	2016
3508	БРЯНСКИЙ 268	Россия	2016
3329	линия 7	Россия	2014
3290	ВИР-2	Россия	2016
3694	СНЕЖЕТЬ	Россия	2016
3695	ДЕНЛАД	Россия	2016
3715		Португалия	2014
3412		ЮАР	2015
3758	16 85 A 198-118	Австралия	2016
3761	BOLIVIO	Германия	2016

3779	84 S 065-26-7-3	Австралия	2016
3784	84 S 065-47-1-1	Австралия	2016
3804	СМЕНА	Россия	2016
3328	ТИМИРЯЗЕВСКИЙ 3	Россия	2014
3527	БСХА-505	Беларусь	2012
3832	НК	Беларусь	2016
3816	ЛАДНЫЙ 7	Россия	2016
3842	ВЛАДЛЕН	Беларусь	2016
3918	ГЕРКУЛЕС	Беларусь	2017
3920	жодзински	Беларусь	2017
3923	МИТАН	Беларусь	2017
3926	РАННИ	Беларусь	2017
3929	СИНИЙ 16	Беларусь	2017
3932	ЩУЧИНСКИЙ 470	Беларусь	2017
3939	СИДЕРАТ 46	Россия	2016
3945	БРЯНСКИЙ КОРМОВОЙ	Россия	2017
3948	ВНИИЛ 13-13	Россия	2017
3949	CH 78-07	Россия	2017
288	WILD LUPIN	Палестина	2013
3564	GS003C	Испания	1997

По статусу образцы разделились следующим образом: сорта научной селекции – 47, местные сорта – 12, селекционные линии – 33, дикорастущие образцы – 8. Сорта научной селекции и селекционный материал в зависимости от содержания алкалоидов используются либо как сидераты (высокоалкалоидные), либо как кормовые (низкоалкалоидные). Это разнообразие очень важно для изучения процессов окультуривания вида, так как в настоящее время вид фактически находится в процессе доместикации.

В дальнейшую работу в последующие годы была взято 62 образца, дошедших в полевой сезон 2019 года до стадии полного созревания.

Образцы выращивали в открытом грунте на опытных полях Пушкинских лабораторий ВИР расположенных в Приневской низменности на окраине г. Санкт-Петербурга. Район относится к атлантико-континентальной области умеренного климатического пояса, средние показатели температуры в период вегетации (с мая по август) +15.5 °C, осадков 46 мм. Выращивание в открытом грунте даёт возможность выявить образцы, наиболее устойчивые к климатическим условиям Северо-Запада РФ.

Посев проводился по методике, принятой для зернобобовых культур (Вишнякова, 2018). Схема посадки материала: 10 растений в ряду на расстоянии приблизительно 5 см, расстояние между рядами одного образца 10 см, расстояние между рядами разных образцов 15 см.

После высушивания в течение двух недель в сетчатом сарае (при температуре и влажности улицы) проводилась оценка структуры урожая. К сожалению, полевой сезон 2021 г. не взят нами в анализ, так как сильные дожди весной и нарушенная мелиорация полей привели к их затоплению в мае-июне, что привело к гибели большей части посевов. Результаты третьего года полевого исследования еще следует получить в этом году – 2022 г.

Во время вегетации и после уборки оценивали следующие показатели:

Таблица 1. Список и аббревиатуры изученных признаков при полевом фенотипировании образцов.

	Признак	Сокращение
1	Высота главного побега	HM
2	Высота боковых побегов	HS
3	Число продуктивных ветвей	NPS
4	Число непродуктивных ветвей	NNS
5	Число бобов на главном стебле	NMP
6	Число бобов на боковых стеблях	NSP
7	Общее число бобов	MTP
8	Масса бобов, г	MP
9	Масса растения без бобов, г	MV
10	Уборочный индекс	HI
11	Масса 1000 семян	W100
12	Масса семян с растения	MSPl
13	Масса створок бобов с растения	MAPl
14	Масса семян и створок с растения	MSAP
15	Доля створок по отношению к массе семян в бобе	PA

Статистическая обработка данных проведена с использованием пакета прикладных программ MS Exel, Statistica 12.

Суммы активных температур составили 1966°С в 2019, 2052°С в 2020. Осадки за период с температурами выше 10°С – 175 мм в 2019, 293 мм в 2020 г. Средние значения за последние 30 лет (1992-2021 гг) – 2209°С и 306 мм, соответственно. Таким образом, годы были прохладнее и засушливее, чем среднемноголетнее значения. 2019 г характеризовался суммой осадков за период активной вегетации на 118 мм, или в 1,7 раза меньше, чем 2020 г., при сравнимой теплообеспеченности. Особенно значительные различия по суммам осадков были в период созревания бобов – в июле (58 vs 91 мм) и августе (25 vs 97 мм).

Для исследования качественного и количественного состава алкалоидов в семенах люпина узколистного было отобрано 62 образца, давших достаточный по количеству урожай семян для проведения биохимического анализа.

Для анализа использовали методику, апробированную в 2019 году, выбранную, исходя из биохимических особенностей алкалоидов. Каждый образец, взятый в исследование, был представлен 8 растениями. Из смеси семян брали среднюю пробу массой в 30 г. Семена измельчали в мельнице Lab Mill 1 QC-114 (Венгрия) до состояния муки (50-100 мкм). Качественный и количественный состав алкалоидов в семенах люпина узколистного производился по методике, апробированной в 2019 году (Kushnareva et al., 2020).

К навеске муки в 500 мг добавляли 8 мл этилацетата и 2 мл 15%-ного раствора NaOH. Пробы инкубировали при температуре +6°C в течение 18 часов. Полученный экстракт, содержащий алкалоиды в форме оснований, отделяли от осадка и анализировали методом газожидкостной хроматографии, сопряжённой с масс-спектрометрией. В качестве внутреннего стандарта использовали раствор кофеина в этилацетате (1 мг/мл).

Пробы анализировали на газовом хроматографе Agilent 6850 A (AgilentTechnologies, SantaClara, CA,USA). Смесь разделяли на капиллярной колонке Agilent HP-5MS (5% фенил 95% метилполисилоксан; 30,0 м, 250,00 мкм, 0,25 мкм), при скорости инертного газа 1,5 мл/мин. Программа нагревания: от +170°C до +320°C, скорость нагревания 4°С/мин. Температура детектора масс-спектрометра составляла +250°C, температура инжектора + 300°C, объем вводимой пробы 1,2 мкл. скорости газа-носителя – гелия: 1,5 мл/мин. Запись хроматограммы начинали через 4 мин, необходимые для выхода растворителя, и продолжали 38 мин.

Идентификацию веществ проводили в программе AMDIS (Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System, National Institute of Standards and Technology, USA, Version 2.69, http://www.amdis.net). Для анализа использовалась библиотека: NIST 2010 (National Institute of Standards and Technology, USA, http://www.nist.gov)

Количественный анализ содержания алкалоидов проводили по внутреннему стандарту (кофеин, концентрация: 1мкг/мкл) в программе UniChrom 5.0.19.

Для оценки динамики содержания низкомолекулярных метаболитов в вегетативной массе люпина на разных стадиях развития было отобрано 5 образцов из группы высокоалкалоидных и 5 образцов из группы низкоалкалоидных.

Таблица 2. Образцы *L. angustifolius* из коллекции ВИР, взятые в эксперимент по оценке динамики накопления метаболитов

№ по каталогу ВИР	Название сорта	Страна происхождения					
Высокоалкалоидные							
1344	C-63	Россия					
2248	№104	Россия					
3562	SLAPSKA	Чехословакия					
3779	84 S 065-26-7-3	Австралия					
3814	ОЛИГАРХ	Россия					
Низкоалкалоидные							
3059	GUNGURRU	Австралия					
3327	ТИМИРЯЗЕВСКИЙ 2	Россия					
3628	ДИКАФ-11	Россия					
3457	GRC-5008 A	Греция					
3758	16 85 A 198-118	Австралия					

Каждый образец был представлен 3 растениями, с каждого растения отбирали по 2 листовые пластинки из листьев главного побега (всего 6 листовых пластинок каждого образца). Сбор материала проводился на трёх стадиях:

- 1. бутонизации (появление нераспустившихся цветков на более 50% растений) 20 июня 2019 года,
 - 2. цветения (более 50% с распустившимися цветками) 14 июля 2019 года,
- 3. формирования плодов (отцветание более 50% цветков, появление зелёных бобов на более 50% растений) 26 июля 2019 года.

Каждую листовую пластинку фиксировали сначала в жидком азоте, затем в 80% этаноле. Пробы инкубировали при температуре +4°C в течение 24 ч. Полученный экстракт высушивали с помощью вакуумного концентратора CentriVapConcentratorLabconco (LabconcoCoporation, KasasCity, USA). Метаболитный профиль анализировали с помощью газовой хроматографии, сопряжённой с масс-спектрометрией, по опубликованному протоколу (Perchuk et al. 2020). К сухому остатку добавляли внутренний стандарт: 20 μл раствора трикозана в пиридине (RI = 2288, концентрация 1 μг/1 μл) и 20 μл N,О-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Пробы силилировали при комнатной температуре в течение 30 минут, затем анализировали на хроматографе Agilent 6850 A (AgilentTechnologies, SantaClara, CA,USA). Разделение веществ проводилось с помощью капиллярной колонки Agilent HP-5MS (30 м; 0,25 мм в диаметре; stationary phase: 5% дифенила, 95% диметилполиоксана с толщиной пленки 0,25 μм, Agilent Technologies, PaloAlto, CA,USA). Анализ проводили при линейном

программировании температуры от 70°C до 320°C, скорости нагревания: 6°C/мин, скорости газа-носителя (гелия) — 1,5 мл/мин. Температура инжектора составляла 300°C, объём вводимой пробы в режиме splitless: 1.2 µL. Запись хроматограммы начинали через 4 мин, необходимые для выхода растворителя, и продолжали 62 мин, режим сканирования ионов: от 70 до 600 атомных единиц массы. Запись велась в режиме регистрации полного ионного тока при 2,0 сканирований в секунду. Ионизация электронным ударом проводилась при 70 eV, температура источника ионов: 230°C. Идентификацию метаболитов выполняли в программе AMDIS (Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System, National Institute of Standards and Technology, USA, Version 2.69, http://www.amdis.net) с использованием библиотек: NIST 2010 (National Institute of Standards and Technology, USA, http://www.nist.gov).

Результаты

Определение продуктивности в полевом эксперименте

Приводим результаты изучения структуры продуктивности коллекцинных образцов за два года изучения (табл. 3 и 4).

Табл. 3. Описательные статистики для образцов люпина узколистного по результатам полевого фенотипирования. Признаки структуры продуктивности.

2019 г.

Признак	N	Mean	SE	Min	Max	CV
Высота растения (боковые), см	54	70,1	2,76	47,1	135,1	3,9
Высота растения (гл), см	47	86,6	2,66	55,5	123,8	3,1
Число продуктивных ветвей	54	5,6	0,22	2,8	10,8	3,9
Число непродуктивных ветвей	54	6,8	0,67	1,4	21,2	9,8
Число бобов на главном стебле	54	6,8	0,31	2,4	11,3	4,6
Число бобов на боковых стеблях	54	28,7	1,85	7,3	68,7	6,4
Число бобов общее	54	35,5	1,82	16,2	76,9	5,1
Масса бобов, г	54	32,6	1,73	8,5	77,4	5,3
Масса растения без бобов, г	54	31,5	1,86	7,7	74,5	5,9
Уборочный индекс	54	1,2	0,06	0,5	2,3	5,2
Масса семян с растения, г	54	15,7	0,87	3,5	35,0	5,5
Масса 100 семян	54	15,1	0,25	11,4	18,6	1,7

Выявлены образцы с максимальными показателями признаков:- семенная продуктивность растения: к-3628, 3172, 3457 (с продуктивностью более 25 г/растение);- сухая вегетативная масса: к – 3607, 2446, 1344, 3565 (более 50 г/растение);- размер семян: к-96, 2446, 2949, 2868, 3605 (масса 1000 семян более 180 г). Определены взаимосвязи между признаками. Наиболее значимые корреляции семенной продуктивности:- масса семян с растения имеет положительные корреляции с числом бобов на растении r=0,548 и массой бобов r=0,919;-

число бобов на боковых ветвях положительно связано с массой бобов на растении r=0,985 и массой семян с растения r=0,548;- число бобов на растении имеет положительные связи с числом продуктивных ветвей r=0,680, числом бобов на боковых ветвях r=0,985, массой бобов r=0,712 и массой семян r=0,548. Можно сделать вывод о том, что большая часть бобов в нашем опыте формируется на боковых ветвях. У признаков вегетативной массы, а именно массы растений без бобов, выявлены положительные корреляции с высотой главного стебля r=0,589 и с числом непродуктивных ветвей r= 0,603. Размер семян (масса 1000 с.) не имел значимых связей ни с одним из изученных признаков.

Табл. 4. Описательные статистики для образцов люпина узколистного по результатам полевого фенотипирования. Признаки структуры продуктивности.

2020 г.

Признак	Mean	Min	Max	CV	SE
Высота (главный побег)	77,3	36,4	121,6	31,0	3,09
Высота (боковые побеги)	61,4	34,8	106,5	29,8	2,36
Число продуктивных побегов	8,4	4,7	16,4	31,5	0,34
Число непродуктивных побегов	7,0	0,7	20,9	62,5	0,57
Число бобов на главном побеге	8,6	3,3	15,3	29,7	0,33
Число бобов на боковых побегах	46,6	17,3	76,3	35,3	2,12
Общее число бобов	55,2	24,0	84,0	29,6	2,11
Масса бобов	40,2	8,6	82,9	41,9	2,17
Масса вегетативной части	57,5	5,6	162,0	65,7	4,88
Масса 1000семян	13,4	5,0	17,3	15,3	0,26
Масса семян с растения	20,5	3,1	44,3	46,5	1,21

Максимальной изменчивостью отличались признаки, связанные с вегетативным ростом растений: высота растений варьировала в пределах от 36,4 до 121,6 см, число непродуктивных побегов от 0,7 до 20,9 на растение; число продуктивных побегов от 4,7 до 16,4. Наибольшие коэффициенты варьирования отмечены для признаков: число непродуктивных побегов (62,5%) и масса вегетативной части растения (65,7%).

Большой изменчивостью отличался и признак масса семян с растения: от 3,1 до 44,3 г, составляя в среднем по выборке 20,5 г. При пересчете на биологическую урожайность при норме высева семян 1,2-1,4 млн/га это равняется 2,45-2,87 т/га. Наиболее продуктивные образцы нашей выборки отличались потенциальной урожайностью 5,31-6,20 т/га.

Предполагается, что большая изменчивость признаков семенной и вегетативной продуктивности – следствие двух причин:

- а) образцы с большой вегетативной массой относятся, как правило, к сидерационным и фуражным. Зерновые сорта имеют меньшую вегетативную массу.
- б) разнообразие изучаемой выборки по селекционному статусу образцов.

Семенная продуктивность растений в среднем по выборке в отчетном году была значительно выше, чем в предыдущем.

Образцы в соответствии с принятой для люпина классификацией ранжира признаков (Международный классификатор СЭВ рода *Lupinus* L.) распределились следующим образом:

- очень низкая масса семян с растения $(5-8 \, \Gamma) 8 \, \text{обр.}$
- низкая (9-16 г) 16 обр.
- средняя (17-24 г) 17 обр.
- высокая (25-32 г) 13 обр.
- очень высокая ($> 32 \, \Gamma$) $8 \, \text{обр}$.

Таким образом, треть исследованных образцов попали в категории «высокая и очень высокая» семенная продуктивность.

Два наиболее продуктивных образца 2019 года вошли в эти категории, показав и в этом году высокие показатели: κ -3628 (34 г/раст) и κ -3457 (26,5 г/раст). Наиболее стабильными по семенной продуктивности (CV < 25%) оказались 8 образцов изученной выборки, при этом их семенная продуктивность не выходила за пределы 12,0-16,1 г/раст., то есть по принятому для люпина ранжиру признаков относилась к низкой.

Связи признаков семенной продуктивности выражаются в средних положительных корреляциях массы семян с растения с числом бобов на боковых ветвях (r=0,625), числом бобов с растения (r=0,559), массой бобов с растения (r=0,599). Последний показатель тесно связан с числом бобов на боковых побегах (r=0,989), а оно, в свою очередь с общей массой бобов с растения (r=0,756).

У признака масса 1000 семян не обнаружено достоверных связей ни с одним из оцениваемых признаков.

Можно отметить, что максимальное число и масса бобов на растениях урожая 2020 года снижено по сравнению с растениями полевого сезона 2019 г., однако значительно возросла максимальная масса растения без бобов.

Выявлены образцы с максимальными показателями признаков продуктивности:

- семенная продуктивность растения: к-3628, 3172, 3457 (с продуктивностью более 25 г/растение);
 - сухая вегетативная масса: $\kappa 3607$, 2446, 1344, 3565 (более 50 г/растение);
 - размер семян: к-96, 2446, 2949, 2868, 3605 (масса 1000 семян более 180 г).

Наиболее значимые корреляции семенной продуктивности:

- масса семян с растения имеет положительные корреляции с числом бобов на растении r=0,548 и массой бобов r=0,919;
- число бобов на боковых ветвях положительно связано с массой бобов на растении r=0,985 и массой семян с растения r=0,548;
- число бобов на растении имеет положительные связи с числом продуктивных ветвей r=0,680, числом бобов на боковых ветвях r=0,985, массой бобов r=0,712 и массой семян r=0,548.

Можно сделать вывод о том, что большая часть бобов в нашем опыте формируется на боковых ветвях.

У признаков вегетативной массы, а именно массы растений без бобов, выявлены положительные корреляции с высотой главного стебля r=0,589 и с числом непродуктивных ветвей r= 0.603.

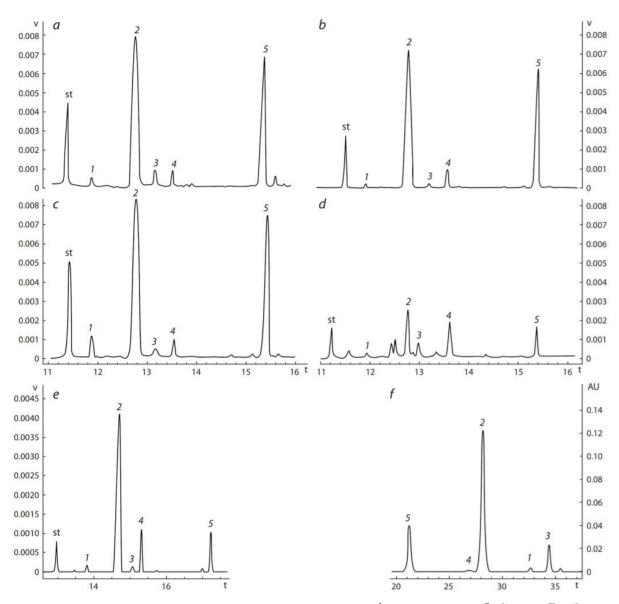
Размер семян (масса 1000 с.) не имел значимых связей ни с одним из изученных признаков.

Анализ содержания алкалоидов в семенах

Осуществлена апробация нескольких известных методов экстракции алкалоидов из семян люпина узколистного с целью выбора оптимального для определения их качественного и количественного состава посредством газовой хроматографии, сопряжённой с масс-спектрометрией (ГХ МС), пригодного для массового скрининга образцов коллекции люпина ВИР. Использовали также высокоэффективную жидкостную хроматографию с масс-спектрометрией (ВЭЖХ МС). Протестированы четыре способа получения алкалоидсодержащих экстрактов с применением различных экстрагентов для извлечения алкалоидов из семян люпина узколистного - как гидрофобные: хлороформ, этилацетат, диэтиловый эфир, так и гидрофильные: метанол, водный раствор соляной кислоты. Способы обозначены нами как А (А1 и А2), В,С, Во всех экстрактах при всех вариантах пробоподготовки выявлены все алкалоиды, характерные для изучаемого вида. Качественный состав алкалоидов во всех исследованных образцах был одинаков. Доминирующим алкалоидом при всех примененных способах экстракции был люпанин, далее по убывающей следуют 13-гидроксилюпанин, спартеин, ангустифолин и изолюпанин, что соответствует имеющимся в литературе данным (Смирнова, 1938; Панкина, Борисова, 2015) (табл.5). Однако степень извлечения алкалоидов при различных способах пробоподготовки была разной (рис. 4).

Максимальное количество алкалоидов отмечено для экстрактов, полученных способом с применением многокомпонентных экстрагентов (способ A) (диэтиловый эфир с добавлением хлороформа и 5% водного раствора NaOH в соотношении10:5:1 (A1) либо

этилацетат с добавлением концентрированного раствора аммиака в соотношении 8:1 — A2), который признан нами как наиболее эффективный для количественной оценки. Данный способ обладает достаточной пропускной способностью и хорошей воспроизводимостью, что позволяет считать его надежным для оценки коллекционного материала и наиболее точного определения суммарной концентрации алкалоидов и количества каждого из них. Однако, в качестве альтернативного способа для массового скрининга большого количества образцов коллекции можно применять пробоподготовку, связанную с использованием



только одного растворителя - метанола или хлороформа — способ С или D. Это даст возможность определить количество доминирующего алкалоида семян люпина узколистного — люпанина, позволит предварительно определить степень допустимого содержания алкалоидов для пищевого и кормового назначения образца, а также ранжировать образцы коллекции по степени содержания алкалоидов (высоко- средне и низкоалкалоидные).

Рис. 4 Хроматограммы проб а - A1, b - A2, c - C, d - D, e - B, полученные на ГХ-МС, f - хроматограмма кислых солей алкалоидов, полученная с помощью ВЭЖХ. Алкалоиды: st - стандарт, 1 - спартеин, 2 - люпанин, 3 - ангустифолин, 4 - изолюпанин, 5 - гидроксилюпанин.

Таблица 5. Содержание алкалоидов в семенах люпина узколистного за 2019-20 гг.

Признак	N	X ± Se	e Minimum		Maximum	CV			
2019 год									
Люпанин	62	391,10±	60,072	3,13		1573,04	120,9		
Гидроксилюпанин	62	59,39±9	,770	0,28		273,21	129,5		
Спартеин	62	42,36±6	,658	0,25		173,41	123,8		
Ангустифолин	62	6,90±1,1	129	0,05		35,38	128,8		
Изолюпанин	62	4,44±0,738		0,03		23,81	131,0		
Сумма алкалоидов	62	504,18±	77,693	3,96		2017,41	121,3		
	1	I	2020 год	[
Люпанин	5	9 203,26±29,8		62	0,14	729,05	112,8		
Гидроксилюпанин	5	59	31,50±4,731	0,29		115,52	115,4		
Спартеин		59	22,96±3,596		0,08	85,19	120,3		
Ангустифолин		3,56±0,552			0,03	15,01	119,3		
Изолюпанин		9 2,42±0,382			0,02	9,27	121,1		
Сумма алкалоидов	5	59	9 263.70±38,572		1,69	898,84	112,4		

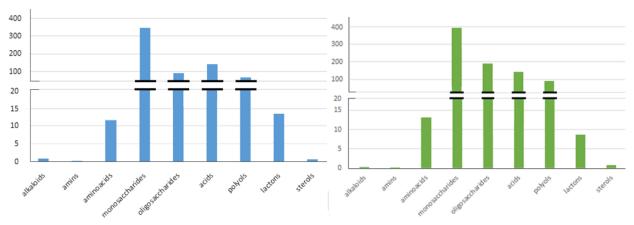
Суммарное содержание алкалоидов в образцах в 2019 г. варьировало от 4 до 2017 мг/100г, в образцах 2020 года репродукции – от 1,7 до 899 мг/100 г. В 51 исследованном образце суммарное содержание алкалоидов было выше в 2019 году, чем в 2020, однако в 8 образцах содержание алкалоидов было ниже. В целом по выборке количество алкалоидов в 2019 г. было в 1,9 раз больше, чем в 2020 г. В 28 образцах 2019 года суммарное содержание алкалоидов было ниже 40 мг/100 г сухого вещества, что соответствует стандартам для пищевого сырья в России. Среди образцов 2020 года таковых было 30. Образцы, показавшие в полевом эксперименте семенную продуктивность более 25 г/растение - к-3628, к-3172, к-3457 – показали содержание алкалоидов ниже 40 мг/100 г.

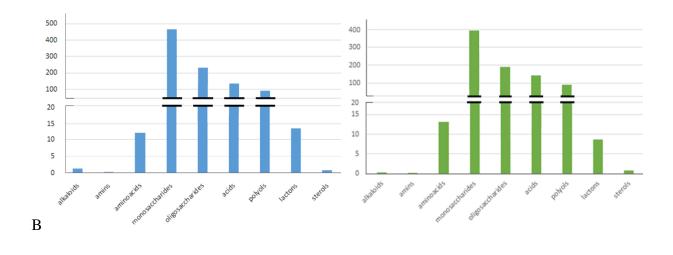
Таким образом, данные по двум годам изучения показали зависимость содержания алкалоидов в семенах люпина от условий года, что характерно и для других биохимических признаков растений. В нашем эксперименте при сравнимых средних температурах воздуха за вегетационный период в оба года, определяющим фактором, по-видимому, можно считать низкое количество осадков – в 1,7 раза меньше за период вегетации в 2019 г., чем в 2020 г.). Особенно ощутимый недостаток осадков наблюдался в июле и августе 2019 г., когда их выпало 58 мм и 25 мм соответственно. Это месяцы, когда происходит налив и созревание семян и накопление в них алкалоидов, поступающих из вегетативных органов. По литературным данным условия засухи увеличивают содержание алкалоидов в люпине (Christiansen et al., 1997) и у других видов растений.

Оценка динамики содержания низкомолекулярных метаболитов

В результате анализа метаболомных профилей (МП) листьев L. angustifolius выявлено около 400 пиков. Порядка 150 соединений идентифицировано до класса, 90 - до соединения.

По качественному составу метаболитов образцы L. angustifolius между собой практически не различались. Метаболомные профили высокоалкалоидных и низкоалкалоидных форм L. angustifolius на разных стадиях развития (бутонизации, цветения, формирования плодов) дифференцировались по количественной представленности групп метаболитов и отдельных веществ.





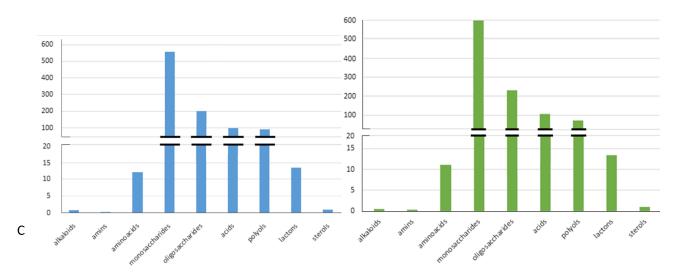


Рис. 5 Содержание групп метаболитов и динамика их изменчивости на разных стадиях развития: бутонизации (А), цветения (В) и формирования плодов (С)) у высокоалкалоидных (столбцы синего цвета) и низкоалкалоидных (столбцы зелёного цвета) образцов *L. angustifolius*. Данные выражены в mV.

Метаболомные профили алкалоидных и безалкалоидных форм имели следующие достоверные различия (определены методом ANOVA). В образцах высокоалкалоидных форм люпина на всех стадиях развития отмечается повышенное содержание алкалоидов, а так же промежуточных продуктов их синтеза - аминов. У низкоалкалоидных - выше общее содержание органических кислот за счет компонентов цикла Кребса: лимонной, яблочной, янтарной кислот. Кроме того, у низкоалкалоидных образцов было достоверно выше содержание моносахаридов и олигосахаридов (рис. 5 A-C)

Накопление алкалоидов во всех образцах, взятых в исследование, было наименьшим на стадии бутонизаци (рис. 5, A), наибольшим — на стадии цветения (рис. 5, B), и промежуточным — на стадии формирования плодов (рис. 5, C). Наибольшее содержание свободных аминокислот при этом приходилось на стадию формирования плодов (рис. 5, C),

вероятно, по причине накопления на данной стадии белковых веществ в семенах, наименьшее – на стадию цветения (рис. 5, В). Достоверно выше на стадии формирования плодов было содержание свободных аминокислот лизина, серина и пролина. Наибольшее суммарное содержание аминов (промежуточных продуктов синтеза алкалоидов) отмечалось на стадии бутонизации (рис. 5, А) – вероятно, перед вступлением в фазу цветения происходит более активный синтез алкалоидов. Пик накопления сахаров (total sugar, oligosugar (сахарозы), monosugar (глюкозы)) у большинства образцов, взятых в исследование, приходился на стадию формирования плодов (рис. 4, С), как основных запасных веществ, что подтверждается исследованиями Гатаулиной и др. (2014), за исключением высокоалкалоидных образцов SLAPSKA и ОЛИГАРХ, у которых пик накопления сахаров приходится на стадию бутонизации (рис. 1). В образцах листьев, соответствующих стадии цветения (рис. 5, В) суммарное содержание многоатомных спиртов ниже, чем в фазу формирования плодов (рис. 5, С), за исключением низкоалкалоидного сорта Тимирязевский 2, у которого пик накопления сахароспиртов приходился на первую стадию. Качественный состав сахароспиртов для всех образцов был одинаков, однако отдельные сахароспирты имели индивидуальную динамику накопления. Содержание сорбита достигало пика в образцах С-63 и №104 на стадии бутонизации, инозита в образцах сорта GUNGURRU – стадии цветения. К созреванию плодов в листовых пластинках отмечалось снижение суммарного содержания сахароспиртов, в том числе сорбита. Стадия бутонизации практически у всех образцов, взятых в исследование отличалась накоплением максимального количества органических кислот, стадия созревания плодов – сахаров, особенно глюкозы (рис. 5, А, С). Для стадии цветения было характерно наибольшее количество фитостеролов, в основном b-ситостерола, за исключением образца ДИКАФ-11, у которого наибольшее содержание стеролов пришлось на стадию бутонизации (рис. 5, A, В). При наблюдении за динамикой накопления ХА на стадиях развития люпина узколистного было отмечено, разных что высокоалкалоидных форм, так у низкоалкалоидных форм максимальное количество алкалоидов, главным образом люпанина, а также аминов, промежуточного продукта биосинтеза хинолизидиновых алкалоидов, наблюдалось на стадии цветения (рис. 5, В). Наименьшее содержание этих веществ приходилось на стадию бутонизации (рис. 5, A). Однако, у алкалоидных форм количественные показатели содержания этих веществ были значительно выше.

Полученные данные по динамике накопления алкалоидов в надземных частях растения согласуются с литературными данными (Maknickiene et al., 2013) и указывают на то, что алкалоиды первично образуются в зелёной массе люпина, а в период созревания

плодов происходит их отток из листьев в семена. Это подтверждается литературными данными: синтез XA в вегетативных тканях, в частности в листьях, и транспорт их в семена по флоэме неоднократно доказан изучением экстрактов из флоэмы и ксилемы (Lee et al., 2006; 2007), в том числе методами транскриптомного анализа (Yang et al., 2017; Frick et al., 2018).

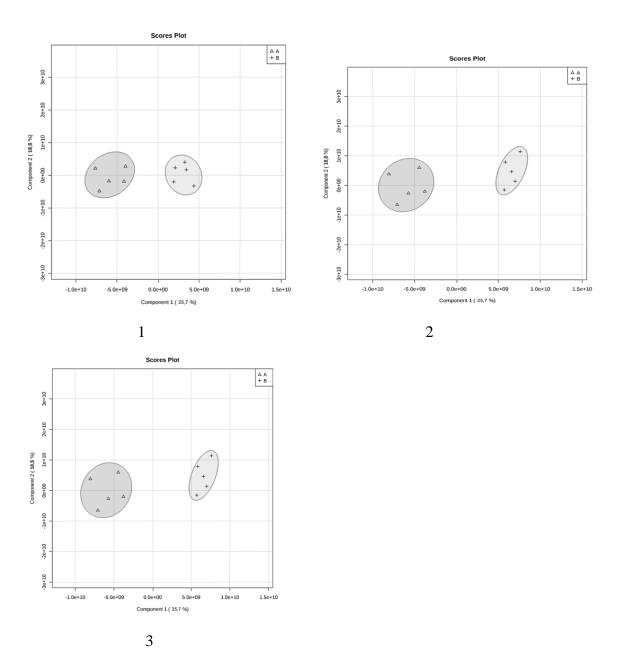


Рис. 6 Распределение высокоалкалоидных (A) и низкоалкалоидных (B) форм люпина узколистного на разных стадиях развития растения (1 – бутонизация, 2 – цветение, 3 – формирование плодов), в пространстве главных компонент.

По результатам анализа метаболитных профилей вегетативной массы высокоалкалоидных и низкоалкалоидных образцов методом главных компонент было установлено, что профили высокоалкалоидных и низкоалкалоидных образцов

группируются в два отдельных массива по признаку алкалоидности. Различия между профилями алкалоидных образцов, с одной стороны, больше, чем малоалкалоидных, и различия между ними нарастают значительнее, чем для низкоалкалоидных образцов, по мере развития растения. Объясняется это большим генетическим разнообразием высокоалкалоидных образцов: для их селекции используются различные как дикие, так и сортовые генотипы, в то время как генофонд малоалкалоидных сортов, созданных за короткое (с 1930х гг.) время их селекции, до сих пор ограничен.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При полевом фенотипировании признаков продуктивности растений выявлена их большая изменчивость. Определен размах изменчивости признаков, степень их варьирования. Определены наиболее значимые корреляции семенной продуктивности.

Выявлены лучшие образцы по семенной продуктивности — свыше 25 г/раст., по вегетативной массе — (сухая масса растения без бобов выше 50 г). Почти треть исследованных образцов попали в категории «высокая и очень высокая» семенная продуктивность. Они могут быть рекомендованы в качестве исходного материала для селекции.

Апробированы различные способы экстракции алкалоидов из растительных тканей люпина узколистного. Определены оптимальные для массового скрининга и предварительной оценки образцов коллекции с допустимым содержанием алкалоидов для пищевого и кормового назначения, а также их ранжирования по степени содержания алкалоидов (высоко- средне и низкоалкалоидные).

Определен количественный и качественный состав хинолизидиновых алкалоидов в листьях и семенах. Выявленная изменчивость признака составляет: в семенах от 1,7 до 2017 мг/100 г., в листьях от 5,1 до 127 мг/100 г. Осуществлена классификация изученных образцов в соответствии с принятым для рода *Lupinus* ранжиром признака (низко, средне и высокоалкалоидные).

Изучены метаболомные профили образцов, контрастных по содержанию XA. Выявлена динамика их накопления в растениях. Пик их накопления приходится на стадию цветения, большинства конститутивных метаболитов приходится на стадию формирования плодов.

Выявлена подверженность содержания XA в семенах влиянию внешней среды. Это выразилось в увеличении синтеза алкалоидов в 1,9 раз в среднем по выборке в 2019 г. по сравнению с 2020 г. При прочих равных условиях выращивания растений в июле и августе

2019 г. наблюдался ощутимый недостаток осадков, чо мы и считаем решающим для увеличения концентрации XA.

Высокоалкалоидные и низкозалкалоидные формы люпина узколистного имеют различную активность биосинтеза первичных и вторичных метаболитов: для первых характерно более интенсивное накопление алкалоидов и промежуточных продуктов их биосинтеза, для вторых — соединений конститутивного метаболизма. Различны также процессы энергетического обмена: у низкоалкалоидных форм отмечена более высокая активность цикла трикарбоновых кислот, у высокоалкалоидных — пентозофосфатного, то есть альтернативного пути.

Связь изученных биохимических признаков с признаками продуктивности растений еще предстоит проанализировать после получения результатов третьего полевого сезона.

Литература:

- Christiansen J. L., Jørnsgård B., Buskov S., Olsen C. E. Effect of drought stress on content and composition of seed alkaloids in narrow-leafed lupin, Lupinus angustifolius L. Eur. J. Agron. 1997;7:307-314. doi:10.1016/S1161-0301(97)00017-8.
- 2. Cowling W.A., Tarr A. Effect of genotype and environment on seed quality in sweet narrow-leafed lupin (Lupinus angustifolius L.). Aust J Agric Res. 2004;55:745-751
- 3. del Pilar Vilariño M., Ravetta D. A. Tolerance to herbivory in lupin genotypes with different alkaloid concentration: Interspecific differences between Lupinus albus L. and L. angustifolius L //Environmental and experimental botany. − 2008. − T. 63. − №. 1-3. − C. 130-136.
- 4. Frick K.M., Kamphuis L.G., Siddique K.H.M., Singh K.B., Foley R.C. Quinolizidine alkaloid biosynthesis in lupins and prospects for grain quality improvement. Plant Sci. 2017;8:1-12. doi.org/10.3389/fpls.2017.00087.
- 5. Hackbarth J., Troll H.J. Lupinen als Körnerleguminosen und Futterpflanzen. In: Handbuch der Pflanzenzüchtung. 1956;IV:1-51.
- Kamel K. A., Swiecicki W., Kaczmarek Z., Barzyk P. Quantitative 'and qualitative content of alkaloids in seeds of a narrow-leafed lupin (Lupinus angustifolius L.) collection. Genet. Resour. Crop Evol. 2015;63:711-719. doi: 10.1007/s10722-015-0278-7
- 7. Kushnareva A. V. Shelenga, T. V., Perchuk, I. N., Egorova, G. P., Malyshev, L. L., Kerv, Y. A., Shavarda A.L., Vishnyakova, M. A.. Selection of an optimal method

- for screening the collection of narrow-leaved lupine held by the Vavilov Institute for the qualitative and quantitative composition of seed alkaloids //Vavilov Journal of Genetics and Breeding. -2020. T. 24. No. 8. C. 829.
- 8. Lee M. J. Pate, J. S., Harris, D. J., & Atkins, C. A. Synthesis, transport and accumulation of quinolizidine alkaloids in Lupinus albus L. and L. angustifolius L //Journal of experimental botany. − 2007. − T. 58. − №. 5. − C. 935-946.
- 9. Maknickiene, Z., Asakaviciute, R., Baksiene, E., & Razukaś, A. (2013). Alkaloid content variations in Lupinus luteus L. and Lupinus angustifolius L.. Archives of Biological Sciences, 65(1), 107-112.
- 10. Muth, D., Kachlicki, P., Krajewski, P., Przystalski, M., &Stobiecki, M. (2009). Differential metabolic response of narrow leafed lupine (Lupinus angustifolius) leaves to infection with Colletotrichum lupini. Metabolomics, 5(3), 354-362.
- 11. Perchuk, I., Shelenga, T., Gurkina, M., Miroshnichenko, E., & Burlyaeva, M. Composition of primary and secondary metabolite compounds in seeds and pods of asparagus bean (Vigna unguiculata (L.) Walp.) from China //Molecules. 2020. T. 25. №. 17. C. 3778.
- 12. Reinhard H., Rupp H., Sager F., Streule M., Zoller O. Quinolizidine alkaloids and phomopsins in lupin seeds and lupin containing food. J. Chromatogr. A. 2006;1112:353-360. doi: 10.1016/j.chroma.2005.11.079
- 13. Romanchuk I.Yu., Anokhina V.S. Lupine alkaloids: structure, biosynthesis, genetics. Molekulyarnaya i Prikladnaya Genetika = Molecular and Applied Genetics. 2018;25:108-123. (in Russian)
- 14. Yang T. Nagy, I., Mancinotti, D., Otterbach, S. L., Andersen, T. B., Motawia, M. S., Geu-Flores, F. Transcript profiling of a bitter variety of narrow-leafed lupin to discover alkaloid biosynthetic genes //Journal of Experimental Botany. 2017. T. 68. №. 20. C. 5527-5537.
- 15. Вишнякова М. А., Сеферова И.В. Буравцева Т.В., Бурляева М.О., Семенова Е.В., Филипенко Г.И., Александрова Т.Г., Егорова Г.П., Яньков И.И., Булынцев С.В., Герасимова Т.В., Другова Е.В. Коллекция мировых генетических ресурсов зерновых бобовых ВИР: пополнение, сохранение и изучение. Методические указания. СПб. 2018:143 с.
- 16. Гатаулина Г. Г., Соколова С. С., Белышкина М. Е. Системный подход к анализу динамических характеристик продукционного процесса у зерновых бобовых культур //Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2014. № 2.

- Красильников В. Н., Мехтиев, В. С., Доморощенкова, М. Л., Демьяненко, Т. Ф., Гаврилюк, И. П., Кузнецова, Л. И Перспективы использования белков из семян люпина узколистного //Пищевая промышленность. 2010. №. 2. С. 40-43
- 18. Купцов Н. С., Такунов И. П. Люпин: генетика, селекция, гетерогенные посевы. 2006.
- 19. Никонович Ю. Н., Тарасенко Н. А., Болгова Д. Ю. Использование продуктов переработки семян люпина в пищевой промышленности //Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2017. № 1. С. 9-12.
- 20. Панкина И. А., Борисова Л. М. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЛКАЛОИДОВ ЛЮПИНА //Вопросы современных технических наук: свежий взгляд и новые решения. 2016. С. 98-101.

Апробация:

Конференция ФГБНУ ВИЛАР «От растения до лекарственного препарата» «Фармакологический потенциал коллекции люпина узколистного ВИР» Кушнарева А.В., Шеленга Т.В., Егорова Г.П., Вишнякова М.А.

«Генетические ресурсы растений для генетических технологий: к 100-летию Пушкинских лабораторий ВИР»: «Изменчивость состава алкалоидов в люпине узколистном (*Lupinus angustifolius* L.) в условиях Ленинградской области» Кушнарева А.В. (Саликова А.В.)

Публикации:

Вишнякова, М. А., Кушнарева, А. В., Шеленга, Т. В., & Егорова, Г. П. (2020). Алкалоиды люпина узколистного как фактор, определяющий альтернативные пути использования и селекции культуры. Вавиловский журнал генетики и селекции, 24(6), 625-635.

Кушнарева, А. В., Шеленга, Т. В., Перчук, И. Н., Егорова, Г. П., Малышев, Л. Л., Керв, Ю. А., Шаварда А.Л., Вишнякова, М. А. (2020). Selection of an optimal method for screening the collection of narrow-leaved lupine held by the Vavilov Institute for the qualitative and quantitative composition of seed alkaloids. Вавиловский журнал генетики и селекции, 24(8), 829-835.