

СООБЩЕНИЯ

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИПИДОМА
CYCAS REVOLUTA И *CYCAS RUMPHII* (CYCADACEAE)

© 2024 г. Е. Р. Котлова^{1,*}, С. В. Сеник¹, И. В. Козлова¹, Е. Б. Серебряков²

¹Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН
ул. Проф. Попова, 2, Санкт-Петербург, 197022, Россия

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

*e-mail: kotlova@yandex.ru

Поступила в редакцию 04.12.2023 г.

Получена после доработки 17.12.2023 г.

Принята к публикации 21.12.2023 г.

Проведен целевой липидомный анализ четырех классов мембранных глицеролипидов у двух видов саговниковых из рода *Cycas* — *C. revoluta* и *C. rumphii*. Анализ молекулярного разнообразия основных фосфолипидов, являющихся компонентами внехлоропластных мембран, выявил архаичные черты, включая высокий уровень молекулярных форм, содержащих C18:1 жирные кислоты (типично для *Ginkgo biloba*), увеличенное относительное содержание молекулярных форм с нечетными жирными кислотами C17:0 и C19:0 (типично для несеменных растений). Вместе с тем анализ молекулярного разнообразия гликолипидов, являющихся компонентами мембран хлоропластов, не обнаружил принципиальных отличий от большинства семенных растений, что свидетельствует о более высокой консервативности липидов фотосинтетического аппарата. Выявленные особенности молекулярного состава глицеролипидов двух видов *Cycas* свидетельствуют о перспективности использования данных липидомики для таксономических и филогенетических исследований. При этом наибольшего внимания заслуживают данные по молекулярному составу глицеролипидов из класса фосфатидилхолинов, для которых продемонстрирована наибольшая гетерогенность и видоспецифичность.

Ключевые слова: *Cycas revoluta*, *Cycas rumphii*, хемосистематика, хемофенетика, липидомика, липидомный профайлинг, фосфолипиды, гликолипиды

DOI: 10.31857/S0006813624020065, EDN: RLBYUS

В последние годы, в связи с расширенным поиском новой объективной информации о фенотипе растений, все чаще используются химические характеристики, полученные методами “омиксных” экспериментальных дисциплин — протеомики, метаболомики, липидомики (Tugizimana et al., 2018; Sharanya et al., 2020; Kaur et al., 2021). В их основе лежат данные о составе и содержании высоко- и низкомолекулярных соединений, полученные с использованием целого ряда гибридных методов анализа, сочетающих разделение смеси метаболитов и определение ее отдельных компонентов. К таким методам относится, например, высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием

(ВЭЖХ-МС). Получаемые с ее помощью массивы данных в сочетании с молекулярными данными и классическими морфологическими, анатомическими и кариологическими характеристиками могут быть использованы в систематике и филогении растений для решения спорных вопросов, касающихся, например, разграничения таксонов (хемосистематика), а также в филогенетических реконструкциях (Reynolds, 2007). Однако на практике, в связи с недостаточной теоретической базой, использование химических признаков для подобных целей затруднено. Так, например, обнаружение сходных по структуре алкалоидов с пиперидиновым циклом у представителей далеких в филогенетическом отношении родов *Conium*

(Apiales), *Sarracenia* (Ericales), *Aloe* (Asparagales) долгое время не находило объяснения, пока не было установлено, что они могут образовываться различными метаболически не связанными путями из ацетата или лизина (Reynolds, 2005). В то же время, как уже было неоднократно продемонстрировано нашей научной группой, отсутствие функционально значимого соединения первичного метаболизма в конкретном образце может быть проявлением дифференциальной экспрессии соответствующих генов у данного вида на определенном этапе развития (Senik et al., 2023) или под влиянием внешних условий (Kiseleva, Kotlova, 2008; Senik et al., 2012, 2015).

Тем не менее с развитием “омиксных” технологий и накоплением знаний о весе тех или иных химических признаков, характеристики протеома и метаболома все чаще используются для решения задач систематики и филогении. Наиболее активно это направление развивается в биологических дисциплинах, предметом изучения которых являются организмы с минимальным количеством морфологических признаков, но с максимально полно секвенированными и аннотированными геномами. Так, группе Р. Engel методами LC-QTOF-MS метаболомики, на основании результатов анализа вторичных азот-содержащих соединений из семейства колибактинов, удалось выделить новый род энтеробактерий и показать его филогенетические связи с другими представителями этой обширной группы бактерий (Engel et al., 2015). Появились публикации, в которых изложены результаты использования метаболомных методов в систематике цветковых растений, в частности, для 8 видов *Paeonia* (He et al., 2014), 19 видов *Dioscorea* (Price et al., 2016) и 55 видов *Euphorbia* (Geltman et al., 2016; Petrova et al., 2023). Причем для отдельных видов рода *Euphorbia* дополнительно была охарактеризована популяционная изменчивость метаболома (Kotlova et al., 2018), а также его динамика в онтогенезе (Sazanova et al., 2019). Весьма успешно данный подход был использован для разграничения комплекса видов из рода *Olearia* (Asteraceae) (Messina et al., 2013, 2014, 2021). Полученные результаты позволили авторам заключить, что метаболомика имеет большой потенциал в таксономии цветковых растений, особенно для проверки границ близкородственных таксонов, где данные

о последовательностях ДНК пока оказались неинформативными. При этом особое значение отводится большим массивам химических данных, позволяющим внести существенный вклад в феноетическую характеристику таксонов (хемофенетика) (Zidorn, 2019). Такие массивы могут быть созданы по результатам LC-QTOF-MS метаболомного профайлинга вторичных или, согласно современной терминологии, специализированных метаболитов, отличающихся особым структурным разнообразием, а также тех соединений первичного метаболизма, которые имеют целую сеть структурных гомологов. Ко второй группе, безусловно, можно отнести глицеролипиды. Особенностью их структуры является ограниченное разнообразие гидрофильных частей (полярных групп), определяющих класс липида, и исключительная гетерогенность гидрофобной части (Harayama, Riezman, 2018). Составляющие ее жирные кислоты могут варьировать по длине углеводородной цепи, количеству и положению двойных связей, а также функциональных групп, и, наконец, общему количеству жирных кислот в молекуле липида. В связи с этим, диацильные (с двумя жирными кислотами) липиды, к которым относятся большинство классов мембранных глико- и фосфолипидов, характеризуются значительно большей гетерогенностью, по сравнению с моноацильными липидами. Максимальная структурная гетерогенность характерна для триацилглицеринов, содержащих три жирные кислоты. Показано, что наличие определенных молекулярных форм липидов является таксоноспецифичным признаком (Rezanka et al., 2018).

Тем не менее липидомика, которая изучает многообразие, распределение и функции отдельных молекулярных форм липидов, в первую очередь глицеро- и сфинголипидов, в ботанических исследованиях используется сравнительно редко, поскольку для анализа материала требует особых высокотехнологичных подходов. Значительные трудности, связанные с получением липидомных данных, объясняются особенностями структуры молекул липидов, среди которых выявляется большое количество изомеров с одинаковой молекулярной массой, что не позволяет применять многие широко используемые в протеомике и метаболомике автоматические режимы анализа, основанные

на различиях точных масс соединений. Не меньше затруднений вызывает интерпретация липидомных данных. Действительно, вес признаков, связанных с химической гетерогенностью класса, может зависеть от особенностей метаболизма, клеточной локализации и функций.

Целью настоящей работы являлся сравнительный анализ четырех классов мембранных глицеролипидов на предмет их молекулярной гетерогенности и возможной видоспецифичности. Среди них — два основных класса гликолипидов, являющихся структурной основой хлоропластов, и два основных класса фосфолипидов, формирующих плазматическую мембрану и мембраны внехлоропластных субклеточных структур. Мы попытались ответить на вопрос, насколько различные классы липидов, принципиально отличающиеся метаболизмом и локализацией, могут отражать специфику растений на уровне таксонов высокого ранга и на видовом уровне. В качестве объекта исследования были выбраны реликтовые растения из семейства *Cycadaceae* — *Cycas revoluta* и *C. rumphii*, которые по предварительным данным липидомного профайлинга, проведенного для представителей покрытосеменных, голосеменных, папоротников и мохообразных, продемонстрировали ряд уникальных особенностей. Выбранные нами представители рода *Cycas* филогенетически достаточно далеко удалены друг от друга (по данным анализа транскриптомов 339 видов *Cycas* относятся к сестринским кладам), для них свойственны значительные различия в морфологии, анатомии, ареалах распространения (Liu et al., 2022). Было важно проследить, сохраняются ли существенные межвидовые различия при сопоставлении химических признаков, основанных на данных липидомики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы растения из оранжерей Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (отдел Ботанический сад), включая 3 экземпляра *Cycas revoluta* Thunb. (8255: возраст и пол неизвестны; 6602: возраст и пол неизвестны; 6622: экземпляр из довоенной коллекции Ботанического сада, ≈150 лет, женское растение) и 1 экземпляр *Cycas rumphii* Miq., (59 лет, мужское растение). Латинские названия

растений и авторы таксонов приведены в соответствии со стандартами, принятыми в базе данных International Plant Names Index. Все использованные растения содержались в условиях естественного освещения и умеренного полива при температуре +10 — +14°C (*C. revoluta*) или +18 — +22°C (*C. rumphii*). Для анализа липидома отбирали 1–2 сегмента из средней части перистых листьев, расположенных в средней части кроны (сбор материала проведен в ноябре 2023 г.).

Липиды экстрагировали в день сбора листьев смесью хлороформ–метанол (1 : 2) (Bligh, Dyer, 1959). Для этого предварительно измельченные листья растирали со смесью растворителей, гомогенат центрифугировали 10 мин. при 10000g и отбирали супернатант. Осадок ресуспендировали в той же смеси растворителей и повторно центрифугировали. К объединенной фракции экстрактов, очищенных путем центрифугирования от растительных волокон, добавляли 2.5% NaCl для разделения водно-метанольной и хлороформной фаз. Нижнюю хлороформную фазу, содержащую липиды, отбирали и упаривали на ротаторном испарителе (Ika, Германия).

Отдельные классы фосфо- и гликолипидов разделяли с помощью двумерной тонкослойной хроматографии на пластинках TLC Silica gel 60 10 × 10 см (Merck, Германия) в системе растворителей хлороформ–метанол–вода (65 : 25 : 4, по объему) в первом направлении и хлороформ–ацетон–метанол–уксусная кислота–вода (50 : 20 : 10 : 10 : 5, по объему) — во втором направлении (Benning et al., 1995). Разделенные классы липидов визуализировали в парах йода и идентифицировали, как описано ранее (Frolova et al., 2021). Липиды, соответствующие фосфатидилхолинам (ФХ), фосфатидилэтаноламинам (ФЭ), моно- (МГДГ) и дигалактозилдиацилглицеринам (ДГДГ), элюировали с силикагеля смесью хлороформ–метанол (1 : 1), силикагель осаждали центрифугированием 10 мин. при 15000g и отбирали супернатант, растворитель выпаривали, а выделенные липиды перерастворяли в 40 мкл метанола.

Структурное разнообразие молекулярных форм выделенных классов липидов определяли методом обращенно-фазовой ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

с ионизацией электрораспылением и тройным квадрупольным масс-анализатором (LC-ESI-QqQ-MS/MS) с использованием прибора Shimadzu LCMS-8030 с УВЭЖХ системой LC-30 Nexera (Shimadzu, Япония). Хроматографическое разделение молекулярных форм липидов проводили на колонке Kinetex C18 (2.6 μ m, 2.1 $\times$ 150 мм, 100Å, Phenomenex) при следующих параметрах: скорость потока — 0.3 мл/мин., температура термостата — +50°C. В качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрил–вода (1 : 1, по объему) (элюент А), 2-пропанол–ацетонитрил–вода (85 : 10 : 5, по объему) (элюент В), содержащие 5 мМ муравьинокислый аммоний и 0.1% (по объему) муравьиную кислоту (Lange et al., 2021). Для разделения липидов использовали программу градиентного элюирования: 1 мин., 45% В; 11 мин., 90% В; 11.1 мин., 100% В; 15 мин., 100% В; 15.1 мин., 45% В; 16 мин., 45% В. Экспериментальные параметры ионного источника: скорость потока газа-распылителя 3.0 л/мин., скорость потока газа-осушителя 15.0 л/мин., температура газа-осушителя +250°C, температура блока-нагревателя +400°C, напряжение на капилляре 3.5 кВ (в положительной моде), 4.5 кВ (в отрицательной моде).

Протокол анализа профилей фосфо- и гликолипидов состоял из двух стадий: 1) нецелевой профайлинг для обнаружения максимально-разнообразия молекулярных форм липидов данного класса с помощью сканирования ионов-предшественников по характеристическим для данного класса фрагментам и 2) целевой профайлинг для определения структуры молекулярных форм, выявленных на первой стадии, и их количества методом мониторинга множественных реакций (MRM). В рамках первого этапа ФХ анализировали в режиме сканирования иона-прекурсора по фрагменту полярной группы 184.1 m/z в положительной моде $[M+H]^+$ при энергии соударения (СЕ) 34 В. Молекулярные массы ФЭ и гликолипидов получали в режиме сканирования нейтральной потери 141.1 m/z в положительной моде $[M+H]^+$ при СЕ 20 В (ФЭ); 179.1 m/z в положительной моде $[M+H]^+$ при СЕ 15 В (МГДГ); 341.1 и 359.1 m/z в положительной моде $[M+H]^+$ при СЕ 18 и 25 В (ДГДГ). Диапазон сканирования во всех случаях устанавливали 630–1050 m/z. На втором этапе целевой профайлинг ФХ и МГДГ проводили в режиме MRM в отрицательной моде

$[M+HCOOH]^-$ при СЕ 40 и 25 В, соответственно. Молекулярные виды ФЭ получали в отрицательной моде $[M-H]^-$ при СЕ 20 В, ДГДГ — в положительной моде $[M+H]^+$ при СЕ 45 В.

Обработку данных проводили в программах LabSolutions Postrun Analysis (Shimadzu) и Skyline (Adams et al., 2020).

Количественный расчет производили по площади хроматографических пиков MRM-переходов, значения нормализовали на сумму всех молекулярных форм данного класса. В качестве внешней калибровки использовали стандартную эквимольную смесь молекулярных форм 13:0/13:0 ФХ, 16:0/16:0 ФХ, 16:0/18:2, 18:0/18:0 ФХ, 19:0/19:0 ФХ и 15:0/15:0 ФЭ (Avanti Polar Lipids, США).

Данные, полученные после статистической обработки эксперимента, проведенного в 3-кратной биологической повторности ($n = 3$), представлены в виде $M \pm \sigma_M$, где M — среднее арифметическое, σ_M — отклонение от среднего арифметического. Достоверность различий в составе и содержании липидов двух видов *Cycas* оценивали по критерию Стьюдента при доверительном уровне значимости $P_i = 95\%$. В статье обсуждаются только статистически значимые различия. Статистический анализ проводили с помощью Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Целевой UPLC-ESI-QqQ-MS/MS анализ липидома двух видов саговниковых из рода *Cycas*, включая *C. revoluta* и *C. rumphii*, показал, что основные классы фосфолипидов отличаются значительно большей гетерогенностью по сравнению с гликолипидами. У *C. revoluta* выявлено 38 молекулярных форм фосфатидилхолинов (ФХ) и 35 фосфатидилэтаноламинов (ФЭ) (рис. 1). *C. rumphii* мало отличался по общему количеству молекулярных форм фосфолипидов — 37 ФХ и 33 ФЭ. Однако распределение молекулярных форм липидов в профилях этих классов имело ряд характерных особенностей, специфичных для вида растения.

У *C. revoluta* в составе ФХ и ФЭ выявлено значительное содержание липидных молекул с

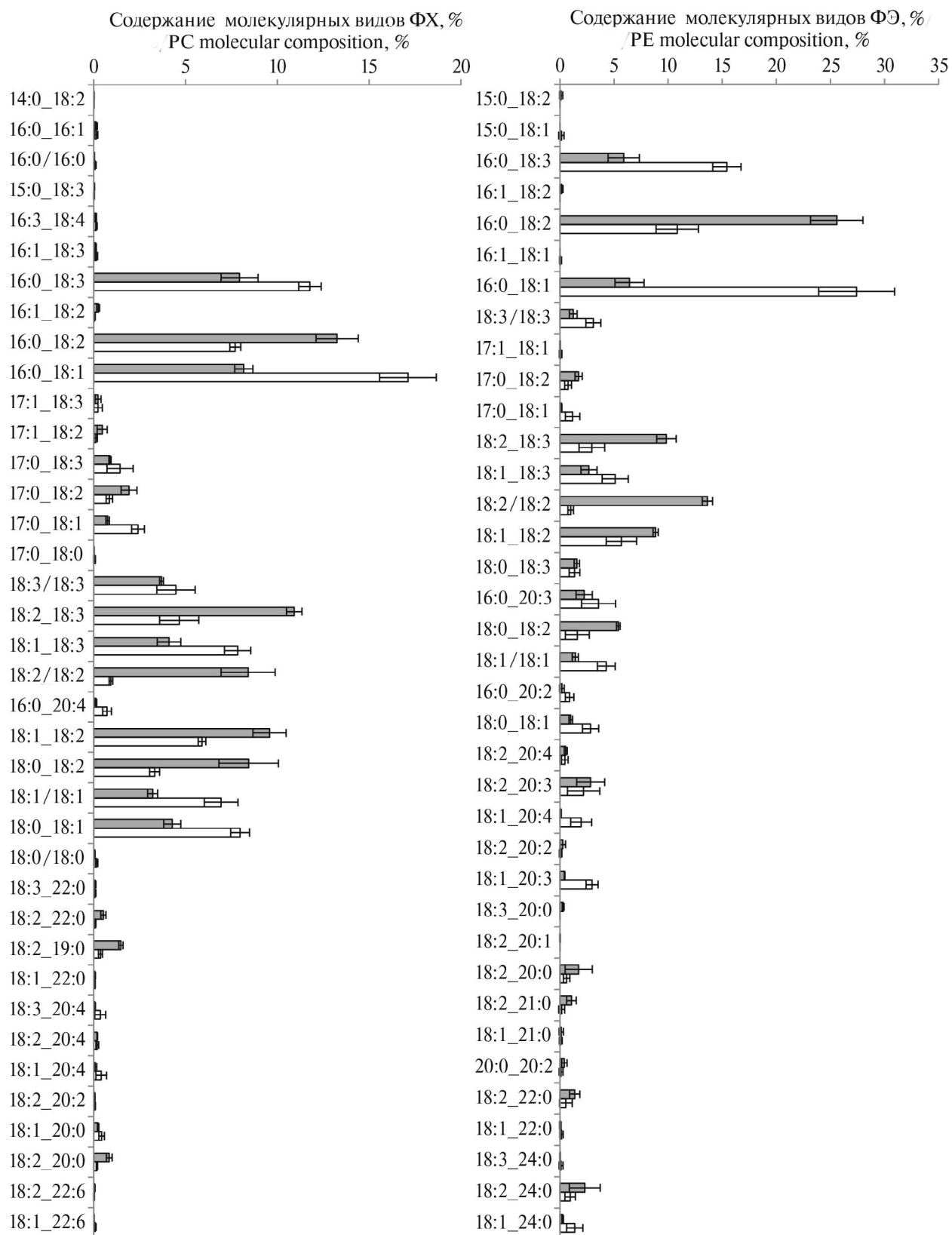


Рис. 1. Состав молекулярных форм фосфолипидов *Cycas revoluta* (серые столбцы) и *C. rumphii* (белые столбцы). Эксперимент проведен в трех повторностях ($n = 3$), бары обозначают стандартное отклонение.

Fig. 1. Phospholipid profiling of *Cycas revoluta* (grey bars) and *C. rumphii* (white bars). The experiments were performed in triplicate ($n = 3$), and error bars indicate standard deviations.

C18:2¹ жирной кислотой, таких как ФХ 16:0_18:2², ФХ 18:2_18:3, ФХ 18:2/18:2, ФХ 18:0_18:2, ФЭ 16:0_18:2, ФЭ 18:2_18:3, ФЭ 18:2/18:2. C18:2 обнаружена также в составе редких молекулярных видов ФХ и ФЭ, содержащих в качестве второго ацильного компонента нечетную жирную кислоту (ФХ 18:2_19:0, ФЭ 17:0_18:2) или жирную кислоту с длинной цепью с 20–24 атомами углерода (ФХ 18:2_20:0, ФЭ 18:2_20:3, ФЭ 18:2_24:0). Наличие значительных количеств липидов, этирифицированных C18:2 кислотой у *C. revoluta* было отмечено в другой работе (Hashidoko et al., 2019). При этом показано, что в корнях *C. revoluta* C18:2, ассоциированная с другими жирными кислотами, например, с C16:0, в составе диацилглицеринов, может выступать в качестве химического фактора, индуцирующего образование гормогониев – коротких нитей цианобактерий рода *Nostoc*, эндосимбионтов цикадовых, локализованных в специализированных кораллоидных корнях. Авторами исследования высказано предположение, что 16:0_18:2 диацилглицерины содержатся в экссудатах кончиков корней цикадовых и играют роль гормогоний-индуцирующих факторов, механизм действия которых связан с активацией протеинкиназы С. Последствием этой реакции на морфологическом уровне является активное дихотомическое ветвление кончиков боковых корней и образование в них воздушных полостей, которые заселяют виды *Nostoc*. Из такой структуры впоследствии образуется характерный для многих цикадовых кораллоидный корень (кораллоид), функция которого связана с усвоением атмосферного азота, что обусловлено деятельностью населяющих его цианобактерий. Как было показано для цикадовых из рода *Dioon*, помимо *Nostoc* sp., кораллоиды могут заселяться другими нитчатыми

цианобактериями, в том числе из родов *Calothrix*, *Microcoleus*, *Leptolyngbya*, *Chroococcus*, *Acaryochloris*, *Scytonema* (Suárez-Moo et al., 2019).

Состав фосфолипидов *C. rumphii* отличался доминированием молекул с C18:1 жирной кислотой, в том числе ФХ 16:0_18:1, ФХ 18:1_18:3, ФХ 18:1/18:1, ФХ 18:0_18:1, ФЭ 16:0_18:1, ФЭ 18:1/18:1. Подобная тенденция в распределении жирных кислот в молекулах фосфолипидов была характерна для обоих ведущих классов – ФХ и ФЭ. Обычные для грибов и растений ФХ 18:2/18:2 и ФЭ 18:2/18:2 с линоленовой кислотой в *sn*-1 и *sn*-2 положениях (Nokhsorov et al., 2022; Kotlova et al., 2024), количество которых в профиле может достигать 50–70% и более (Kotlova et al., 2022), у *C. rumphii* оказались минорными (до 2%). Такой состав молекулярных форм фосфолипидов, составляющих основу экзо- и эндомембран, выглядит достаточно архаично и, по данному признаку, сближает *C. rumphii* с другим древним семенным растением – *Ginkgo biloba*. Анализ свободных жирных кислот и триглицеридов масла семян *G. biloba* также выявил необычно высокое содержание C18:1 (более 30% от суммы жирных кислот), которые были представлены олеиновой C18:1^{Δ9} и транс-вакценовой C18:1^{Δ11} кислотами и входили в состав различных молекулярных форм триглицеридов, в частности, таких как 18:2_18:1_18:1 и 18:2_18:1_16:0 (Xie et al., 2021). Как показал филогенетический анализ полных ядерных и пластидных геномов 15 видов растений, включая цикадовые и гинкго, данные растения образуют кладу, сестринскую по отношению ко всем остальным ныне живущим голосеменным (Liu et al., 2022). Высокая степень гомологии, сближающая эти таксоны, выявлена среди генов, кодирующих синтез ферментов, связанных с вторичным ростом ксилемы и флоэмы, образованием пыльцы и ряда репродуктивных структур, MADS-box фактором, контролирующим механизм определения пола растения, а также среди генов, отвечающих за синтез защитных соединений, например, терпеноидов (Liu et al., 2022). Согласно полученным нами данным, свидетельствующим о своеобразии липидома *Cycas*, гены фосфолипидного метаболизма и связанного с ним метаболизма триглицеридов у цикадовых и *Ginkgo* также могут иметь высокую степень гомологии.

¹ Здесь и далее в сокращенном названии жирной кислоты, в данном случае C18:2, первое значение (C18) указывает на количество атомов углерода в ацильной цепи, второе (2) – на общее количество двойных связей. Положение двойных связей в настоящей работе не определялось.

² В сокращенном названии молекулярных форм липидов, содержащих две жирные кислоты в *sn*-1 и *sn*-2 положениях глицериновой части молекулы, знаком подчеркивания (например, ФХ 16:0_18:2) принято разделять жирные кислоты в случае, если их положение в молекуле не определено (Liebisch et al., 2020). Использование знака дроби (слева) указывает на точное определение положения жирных кислот в молекуле липида. Так, запись ФХ 16:0/18:2 означает, что C16:0 находится в *sn*-1 положении молекулы ФХ, а C18:2 – в *sn*-2 положении.

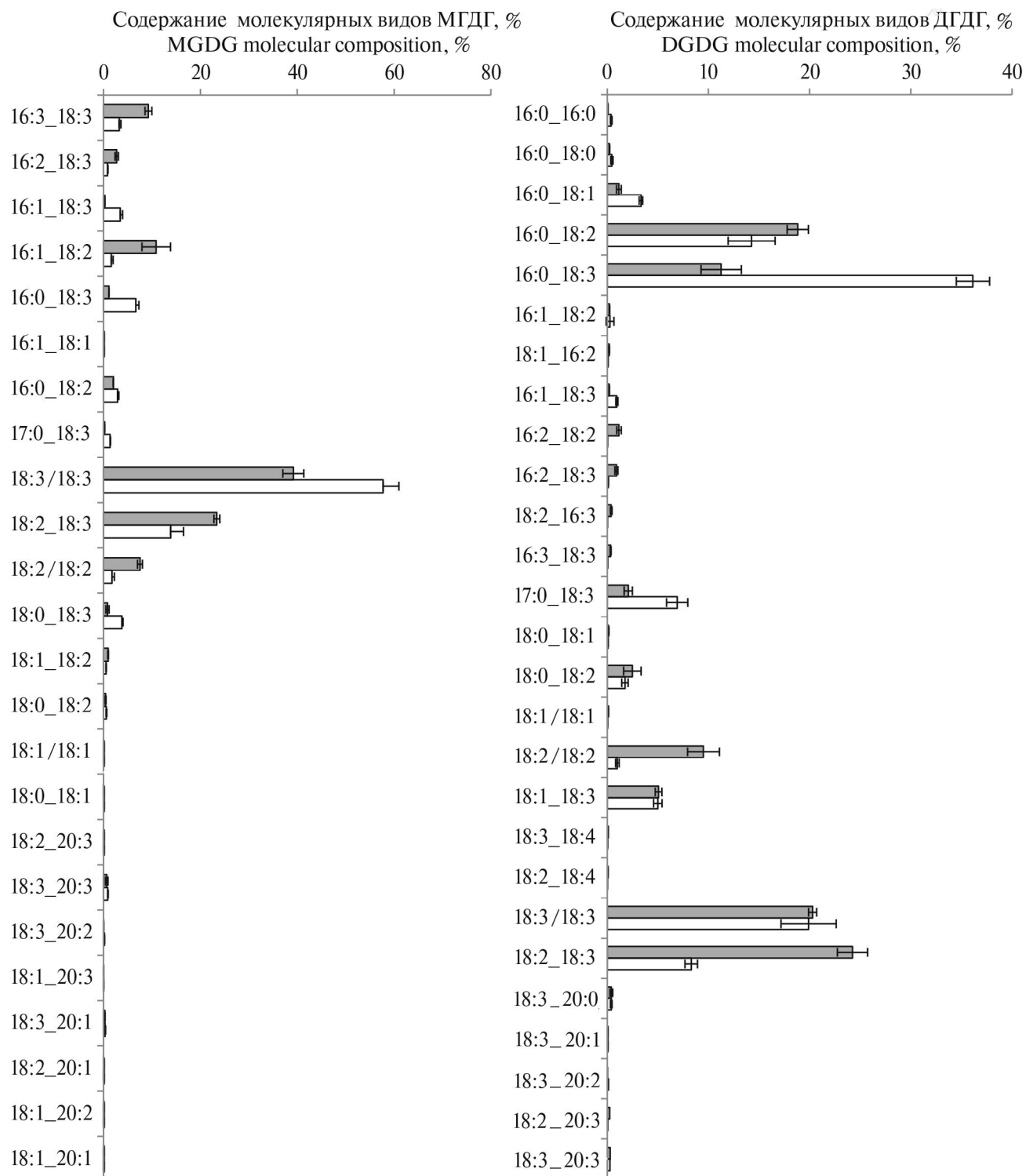


Рис. 2. Состав молекулярных форм гликолипидов *Cycas revoluta* (серые столбцы) и *C. rumphii* (белые столбцы). Эксперимент проведен в трех повторностях ($n = 3$), бары обозначают стандартное отклонение.

Fig. 2. Glycolipid profiling of *Cycas revoluta* (grey bars) and *C. rumphii* (white bars). The experiments were performed in triplicate ($n = 3$), and error bars indicate standard deviations.

Анализ фосфолипидома продемонстрировал свою перспективность для характеристики цикадовых на уровне таксонов высокого

ранга — обнаружены архаичные признаки (высокий уровень молекулярных видов с C18:1, сравнительно высокое содержание молекулярных

видов с нечетными C17:0 и C19:0 жирными кислотами), сближающие реликтовые виды *Cycas* с *Ginkgo biloba* и отличающие их от других ныне живущих семенных растений. Одновременно выявлены значительные межвидовые различия *C. revoluta* и *C. rumphii*, что, несомненно, делает фосфолипиды интересным объектом для таксономических и филогенетических исследований. Здесь важно подчеркнуть, что в отличие от триглицеридов, выводимых из метаболизма и депонируемых в клетке в виде липидных включений, при этом отличающихся особым молекулярным разнообразием, которое используется в хемотаксономическом анализе (Ohlrogge et al., 2018), фосфолипиды являются важным структурным и регуляторным компонентом мембран. От их состава зависят как физико-химические свойства мембран, так и активность связанных с ними рецепторов, ферментов, ионных каналов и др. Выявленные в молекулярном составе фосфолипидов различия могут указывать на наличие принципиальных особенностей в физиологии и метаболизме данных видов.

Помимо фосфолипидов нами был проведен анализ липидома двух основных классов гликолипидов — моно- (МГДГ) и дигалактозилдиацилглицеринов (ДГДГ). Данные классы липидов также являются основным компонентом мембран. Однако локализованы они большей частью в наружной и внутренней мембранах хлоропластов и мембранах тилакоидов. В составе МГДГ обнаружено 24 молекулярных формы липидов, в составе ДГДГ — 27 (рис. 2). Из них количественно преобладали 6–8 молекулярных форм, которые в сумме составляли 90% от всех выявленных форм липидов данных классов, остальные содержались лишь в следовых количествах. Доминирующими молекулярными формами, как и у большинства изученных семенных растений, являлись МГДГ 18:3_18:3, МГДГ 18:2_18:3, ДГДГ 16:0_18:2, ДГДГ 16:0_18:3, ДГДГ 18:3_18:3, ДГДГ 18:2_18:3. Таким образом, анализ гликолипидов двух видов *Cycas* не выявил каких-либо принципиальных отличий, свидетельствующих об особенностях липидного обмена фотосинтетического аппарата. Тем не менее, можно отметить, что как и при анализе фосфолипидома, в составе гликолипидов *C. revoluta* большую часть, по сравнению с *C. rumphii*, составляли молекулярные виды с C18:2 кислотами (МГДГ 18:2_18:2, ДГДГ

16:0_18:2, ДГДГ 18:2_18:3). Среди молекулярных видов гликолипидов *C. rumphii* преобладали молекулы с C18:3 (МГДГ 18:3_18:3, ДГДГ 16:0_18:3, ДГДГ 18:3_18:3). Высокая степень консервативности липидома хлоропластов, по-видимому, не позволяет использовать его для развернутых сравнительных таксономических исследований, однако также может продемонстрировать своеобразие изучаемых видов.

Как следует из анализа литературы, *C. revoluta* и *C. rumphii* филогенетически далеки друг от друга. По данным М. Coiro с соавторами (2023), сопоставившими 321 вид современных и ископаемых цикадовых по морфологии листьев и молекулярным данным, включая 104 из 118 известных видов рода *Cycas*, цикадовые весьма гетерогенны по многим признакам, включая морфологию, анатомию, ареалы распространения, а также происхождение. Так, считается, что *C. revoluta* дивергировал в позднем миоцене около 12 млн лет назад, в то время как *C. rumphii* появился гораздо позже, по проведенным оценкам, в плиоцене около 4 млн лет назад. Данные виды отличаются формой и размером листьев, высотой и особенностями ветвления ствола, анатомией корня, а также способностью корневой системы образовывать эндосимбиоз с различными видами цианобактерий. *C. revoluta* распространен в субтропической зоне в Японии и Китае, *C. rumphii* — в тропической зоне Индонезии и Новой Гвинеи. Анализ липидома, проведенный в данной работе, дает основание заключить, что виды рода *Cycas* заметно различаются не только на уровне морфологии и экологии, но и на уровне метаболизма липидов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 22-24-01152) на базе научного парка СПбГУ, РЦ “Методы анализа состава вещества”, шифр проекта 42.39.809.2017.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Adams K.J., Pratt B., Bose N., Dubois L.G., St. John-Williams L., Perrott K.M., Ky K., Kapahi P., Sharma V., MacCoss M.J., Moseley M.A., Colton C.A., MacLean B.X., Schilling B., Thompson J.W. 2020. Alzheimer's Disease Metabolomics Consortium. Skyline for Small Molecules: A Unifying Software

- Package for Quantitative Metabolomics. — J. Proteome Res. 19: 1447–1458.
- Benning C., Huang Z.H., Gage D.A. 1995. Accumulation of a novel glycolipid and a betaine lipid in cells of *Rhodobacter sphaeroides* grown under phosphate limitation. — Arch. Biochem. Biophys. 317: 103–111.
- Bligh E.G., Dyer W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. — Can. J. Biochem. Physiol. 37(8): 911–917.
- Coiro M., Allio R., Mazet N., Seyfullah L.J., Condamine F.L. 2023. Reconciling fossils with phylogenies reveals the origin and macroevolutionary processes explaining the global cycad biodiversity. — New Phytol. 240(4): 1616–1635.
<https://doi.org/10.1111/nph.19010>
- Engel P., Vizcaino M.I., Crawford J.M. 2015. Gut symbionts from distinct hosts exhibit genotoxic activity via divergent colibactin biosynthesis pathways. — Appl. Environ. Microbiol. 81(4): 1502–12.
- [Frolova et al.] Фролова, Г.М.; Котлова, Е.Р.; Сокорнова, С.В.; Сеник, С.В.; Шаварда, А.Л.; Мишарев, А.Д.; Берестецкий, А.О. 2021. Патогенные свойства и липидный состав мицелия в процессе роста глубинной культуры гриба *Stagonospora cirsii* ВЗР 1.41. — Прикладная биохимия и микробиология. 57(2): 152–162.
- Geltman D.V., Shavarda A.L., Kotlova E.R., Medvedeva N.A., Sazanov K.V., Puzanskii R.K., Petrova N.V., Pavlova N.I. 2016. Metabolomic approach to the study of the biodiversity of the genus *Euphorbia* (Euphorbiaceae). — International conference “Innovative approaches to conservation of biodiversity” dedicated to the 80th anniversary of the Institute of botany, Azerbaijan National Academy of Sciences: Conference program and abstract book. Baku. P. 17.
- Harayama T., Riezman H. 2018. Understanding the diversity of membrane lipid composition. — Mol. Cell Biol. 19: 281–296.
- Hashidoko Y., Nishizuka H., Tanaka M., Murata K., Murai Y., Hashimoto M. 2019. Isolation and characterization of 1-palmitoyl-2-linoleoyl-sn-glycerol as a hormogonium-inducing factor (HIF) from the coralloid roots of *Cycas revoluta* (Cycadaceae). — Sci. Rep. 9(1): 4751.
- He C., Peng B., Dan Y., Peng Y., Xiao P. 2014. Chemical taxonomy of tree peony species from China based on root cortex metabolic fingerprinting. — Phytochemistry. 107: 69–79.
- Kaur B., Sandhu K.S., Kamal R., Kaur K., Singh J., Röder M.S., Muqaddasi Q.H. 2021. Omics for the improvement of abiotic, biotic, and agronomic traits in major cereal crops: applications, challenges, and prospects. — Plants (Basel). 10(10): 1989.
- [Kiseleva, Kotlova] Киселева М.А., Котлова Е.Р. 2008. Влияние длительного фосфорного голодания на мембранные липиды свободноживущей и симбиотических зеленых водорослей рода *Pseudococcomyxa*. — Бот. журн. 93(1): 88–97.
<https://elibrary.ru/item.asp?id=53907222>
- Kotlova E.R., Senik S.V., Manzhieva B.S., Kiyashko A.A., Shakhova N.V., Puzansky R.K., Volobuev S.V., Misharev A.D., Serebryakov E.B., Psurtseva N.V. 2022. Diversity of ESI-MS based phosphatidylcholine profiles in basidiomycetes. — J. Fungi. 8(2): 177.
- Kotlova E.R., Senik S.V., Pozhvanov G.A., Prokopiev I.A., Boldyrev I.A., Manzhieva B.S., Amigud E Ya., Khakulova A.A., Serebryakov E.B. 2024. Uptake and metabolic conversion of exogenous phosphatidylcholines depending on their acyl chain structure in *Arabidopsis thaliana*. — Int. J. Mol. Sci. 25(1): 89.
- [Kotlova et al.] Котлова Е.Р., Петрова Н.В., Медведева Н.А., Виноградская М.А., Пузанский Р.К., Сазанова К.В., Гельтман Д.В., Шаварда А.Л. 2018. Внутривидовая изменчивость метаболома *Euphorbia palustris* L. (Euphorbiaceae) в зависимости от фенологической фазы. — Растит. Ресурсы. 54(4): 128–155.
- Lange M., Angelidou G., Ni Z., Criscuolo A., Schiller J., Blüher M., Fedorova M. 2021. AdipoAtlas: A reference lipidome for human white adipose tissue. — Cell Reports Medicine. 2: 100407.
- Liebisch G., Fahy E., Aoki J., Dennis E.A., Durand T., Ejsing C.S., Fedorova M., Feussner I., Griffiths W.J., Köfeler H., Merrill A.H. Jr, Murphy R.C., O'Donnell V.B., Oskolkova O., Subramaniam S., Wakeham M.J.O., Spener F. 2020. Update on LIPID MAPS classification, nomenclature, and shorthand notation for MS-derived lipid structures. — J Lipid Res. 61(12): 1539–1555.
<https://doi.org/10.1194/jlr.S120001025>
- Liu Y., Wang S., Li L., Yang T., Dong S., Wei T., Wu S., Liu Y., Gong Y., Feng X., Ma J., Chang G., Huang J., Yang Y., Wang H., Liu M., Xu Y., Liang H., Yu J., Cai Y., Zhang Z., Fan Y., Mu W., Sahu S.K., Liu S., Lang X., Yang L., Li N., Habib S., Yang Y., Lindstrom A.J., Liang P., Goffinet B., Zaman S., Wegrzyn J.L., Li D., Liu J., Cui J., Sonnenschein E.C., Wang X., Ruan J., Xue J.Y., Shao Z.Q., Song C., Fan G., Li Z., Zhang L., Liu J., Liu Z.J., Jiao Y., Wang X.Q., Wu H., Wang E., Lisby M., Yang H., Wang J., Liu X., Xu X., Li N., Soltis P.S., Van de Peer Y., Soltis D.E., Gong X., Liu H., Zhang S. 2022. The *Cycas* genome and the early evolution of seed plants. — Nat. Plants. 8(4): 389–401.
- Messina A., Walsh N.G., Hoebee S.E., Green P.T. 2013. A morphological assessment of the *Olearia phlogopappa* complex (Asteraceae: Astereae). — Australian Systematic Botany. 26: 31–80.
- Messina A., Walsh N.G., Hoebee S.E., Green P.T. 2014. A revision of *Olearia* section *Asterotriche* (Asteraceae: Asterae). — Australian Systematic Botany. 27: 199–240.
- Messina A., Callahan D.L., Walsh N.G., Hoebee S., Green P. 2021. Testing the boundaries of closely

- related daisy taxa using metabolomic profiling. — La Trobe. Journal contribution.
<https://doi.org/10.26181/60246df54da75>
- Nokhsorov V.V., Senik S.S., Sofronova E.V., Kotlova E.R., Misharev A.D., Chirikova N.K., Dudareva L.V. 2022. Role of lipids of the evergreen shrub *Ephedra monosperma* in adaptation to low temperature in the cryolithozone. — *Plants*. 12(1): 15.
- Ohlrogge J., Thrower N., Mhaske V., Stymne S., Baxter M., Yang W., Liu J., Shaw K., Shorrosh B., Zhang M., Wilkerson C., Matthäus B. 2018. PlantFAdB: a resource for exploring hundreds of plant fatty acid structures synthesized by thousands of plants and their phylogenetic relationships. — *Plant J.* 96(6): 1299–1308.
- [Petrova et al.] Петрова Н.В., Шаварда А.Л., Медведева Н.А., Гельтман Д.В., Котлова Е.Р., Сазанова К.В., Пузанский Р.К. 2023. Профайлинговый скрининг 55 видов рода *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae) для их оценки как потенциальных источников эллаговой кислоты. — *Химия раст. сырья*. 1: 87–100.
- Price E.J., Wilkin P., Sarasan V., Fraser P.D. 2016. Metabolite profiling of *Dioscorea* (yam) species reveals underutilised biodiversity and renewable sources for high-value compounds. — *Sci Rep*. 6: 29136.
- Reynolds T. 2007. The evolution of chemosystematics. — *Phytochemistry*. 68: 2887–2895.
- Reynolds T. 2005. Hemlock alkaloids from Socrates to poison aloe. — *Phytochemistry*. 66: 1399–1406.
- Řezanka T., Kolouchova I., Gharwalova L., Palyzová A., Sigler K. 2018. Lipidomic analysis: from archaea to mammals. — *Lipids*. 53: 5–25.
<https://doi.org/10.1002/lipd.12001>
- [Sazanova et al.] Сазанова К.В., Котлова Е.Р., Пузанский Р.К., Медведева Н.А., Виноградская М.А., Петрова Н.В., Павлова Н.И., Гельтман Д.В., Шаварда А.Л. 2019. Динамика метаболома листьев растений рода *Euphorbia* (Euphorbiaceae) при смене фенологических фаз. — *Бот. журн.* 104(6): 967–978.
<https://doi.org/10.1134/S0006813619060127>
- [Senik et al.] Сеник С.В., Котлова Е.Р., Новиков А.В., Шаварда А.Л., Псурцева Н.В. 2012. Образование диацилглицерилтриметилгомосеринов в поверхностной культуре базидиомицета *Flammulina velutipes*. — *Микробиология*. 81(5): 578–586.
- Senik S.V., Maloshenok L.G., Kotlova E.R., Shavarda A.L., Moiseenko K.V., Bruskin S.A., Koroleva O.V., Psurtseva N.V. 2015. Diacylglyceryltrimethylhomoserine content and gene expression changes triggered by phosphate deprivation in the mycelium of the basidiomycete *Flammulina velutipes*. — *Phytochemistry*. 117: 34–42.
- Senik S.V., Manzhieva B.S., Maloshenok L.G., Serebryakov E.B., Bruskin S.A., Kotlova E.R. 2023. Heterogeneous distribution of phospholipid molecular species in the surface culture of *Flammulina velutipes*: new facts about lipids containing α -linolenic fatty acid. — *Journal of Fungi (Basel)*. 9(1): 102.
- Sharanya C.S., Sabu A., Haridas M. 2020. Plant metabolomics: current status and prospects. — In: *Plant metabolites: methods, applications and Prospects*. Springer, Singapore. P. 1–22.
- Suárez-Moo P.J., Vovides A.P., Griffith M.P., Barona-Gómez F., Cibrián-Jaramillo A. 2019. Unlocking a high bacterial diversity in the coralloid root microbiome from the cycad genus *Dioon*. — *PLoS One*. 14(2): e0211271.
- Tugizimana F., Mhlongo M.I., Piater L.A., Dubery I.A. 2018. Metabolomics in Plant Priming Research: The Way Forward? — *Int J Mol Sci*. 19(6): 1759.
- Xie L., Zhang T., Zheng L., Xie D., Jin J., Wang X., Jin Q. 2021. Chemical compositions and oxidative stabilities of *Ginkgo biloba* kernel oils from four cultivated regions in China. — *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 98: 541–550.
- Zidorn C. 2019. Plant chemophenetics — A new term for plant chemosystematics/plant chemotaxonomy in the macro-molecular era. — *Phytochemistry*. 163: 147–148.
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.02.013>

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE LIPIDOME OF *CYCAS REVOLUTA* AND *C. RUMPHII* (CYCADACEAE)

E. R. Kotlova^{a, #}, S. V. Senik^a, I. V. Kozlova^a, E. B. Serebryakov^b

^aKomarov Botanical Institute RAS

Prof. Popov Str., 2, Saint-Petersburg, 197022, Russia

^bSaint-Petersburg State University

Universitetskaya Emb., 7/9, Saint-Petersburg, 199034, Russia

[#]e-mail: kotlova@yandex.ru

A targeted lipidomics analysis of four classes of membrane glycerolipids was carried out in two species of Cycadaceae from the genus *Cycas* – *C. revoluta* and *C. rumphii*. The analysis of the molecular diversity of the main phospholipids, which are the components of extra-chloroplast membranes, has revealed archaic features, including a high level of molecular species containing C18:1 fatty acids (typical of *Ginkgo biloba*), increased relative content of molecular species with odd fatty acids C17:0 and C19:0 (typical of non-seed plants). At the same time, the analysis of the molecular diversity of the glycolipids which are the components of chloroplast membranes, did not find significant differences from most seed plants, which indicates a higher conservation of lipids of a photosynthetic apparatus. The identified features of the molecular composition of glycerolipids of two species of *Cycas* indicate the prospectiveness of using lipidomics for taxonomic and phylogenetic studies, with the data on the molecular composition of phosphatidylcholines, for which the greatest heterogeneity and species-specificity was demonstrated, deserving the most attention.

Keywords: *Cycas revoluta*, *Cycas rumphii*, chemosystematics, chemophenetics, lipidomics, lipidomic profiling, phospholipids, glycolipids

ACKNOWLEDGEMENTS

This project was funded by Russian Science Foundation (project No. 22-24-01152). Lipidomic profiling was performed on the equipment of the Research Resource center “Chemical Analysis and Materials” of St. Petersburg State University (research project 42.39.89.2017).

REFERENCES

- Adams K.J., Pratt B., Bose N., Dubois L.G., St John-Williams L., Perrott K.M., Ky K., Kapahi P., Sharma V., MacCoss M.J., Moseley M.A., Colton C.A., MacLean B.X., Schilling B., Thompson J.W. 2020. Alzheimer’s Disease Metabolomics Consortium. Skyline for Small Molecules: A Unifying Software Package for Quantitative Metabolomics. – J. Proteome Res. 19: 1447–1458.
- Benning C., Huang Z.H., Gage D.A. 1995 Accumulation of a novel glycolipid and a betaine lipid in cells of *Rhodobacter sphaeroides* grown under phosphate limitation. – Arch. Biochem. Biophys. 317: 103–111.
- Bligh E.G., Dyer W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. – Can. J. Biochem. Physiol. 37(8): 911–917.
- Coiro M., Allio R., Mazet N., Seyfullah L.J., Condamine F.L. 2023. Reconciling fossils with phylogenies reveals the origin and macroevolutionary processes explaining the global cycad biodiversity. – New Phytol. 240(4): 1616–1635.
<https://doi.org/10.1111/nph.19010>
- Engel P., Vizcaino M.I., Crawford J.M. 2015. Gut symbionts from distinct hosts exhibit genotoxic activity via divergent colibactin biosynthesis pathways. – Appl. Environ. Microbiol. 81(4): 1502–12.
- Frolova G.M., Kotlova E.R., Sokornova S.V., Senik S.V., Shavarda A.L., Misharev A.D., Berestetskiy A.O. 2021. Pathogenicity and lipid composition of mycelium of the fungus *Stagonospora cirsii* VIZR 1.41 during submerged cultivation. – Applied Biochemistry and Microbiology. 57(2): 226–235.
- Geltman D.V., Shavarda A.L., Kotlova E.R., Medvedeva N.A., Sazanova K.V., Puzanskii R.K., Petrova N.V., Pavlova N.I. 2016. Metabolomic approach to the study of the biodiversity of the genus *Euphorbia* (Euphorbiaceae). – International conference “Innovative approaches to conservation of biodiversity” dedicated to the 80th anniversary of the Institute of botany, Azerbaijan National Academy of Sciences: Conference program & abstract book. Baku. P. 17.

- Harayama T., Riezman H. 2018. Understanding the diversity of membrane lipid composition. — *Mol. Cell Biol.* 19: 281–296.
- Hashidoko Y., Nishizuka H., Tanaka M., Murata K., Murai Y., Hashimoto M. 2019. Isolation and characterization of 1-palmitoyl-2-linoleoyl-sn-glycerol as a hormogonium-inducing factor (HIF) from the coralloid roots of *Cycas revoluta* (Cycadaceae). — *Sci. Rep.* 9(1): 47–51.
- He C., Peng B., Dan Y., Peng Y., Xiao P. 2014. Chemical taxonomy of tree peony species from China based on root cortex metabolic fingerprinting. — *Phytochemistry*. 107: 69–79.
- Kaur B., Sandhu K.S., Kamal R., Kaur K., Singh J., Röder M.S., Muqaddasi Q.H. 2021. Omics for the improvement of abiotic, biotic, and agronomic traits in major cereal crops: applications, challenges, and prospects. — *Plants (Basel)*. 10(10): 1989.
- Kiseleva M.A., Kotlova E.R. 2008. The effect of long-term phosphate starvation on the membrane lipids of free-living and symbiotic green algae from the genus *Pseudococcomyxa*. — *Bot. Zhurn.* 93(1): 88–97 (In Russ.).
- Kotlova E.R., Petrova N.V., Medvedeva N.A., Vinogradskaya M.A., Puzanskiy R.K., Sazanova K.V., Geltman D.V., Shavarda A.L. 2018. Intrapopulation variability of *Euphorbia palustris* L. (Euphorbiaceae) metabolome depending on phenological phase. — *Rast. Resursy*. 54(4): 128–155 (In Russ.).
<https://doi.org/10.7868/s0033994618040079>
- Kotlova E.R., Senik S.V., Manzhieva B.S., Kiyashko A.A., Shakhova N.V., Puzansky R.K., Volobuev S.V., Misharev A.D., Serebryakov E.B., Psurtseva N.V. 2022. Diversity of ESI-MS based phosphatidylcholine profiles in basidiomycetes. — *J. Fungi*. 8(2): 177.
- Kotlova E.R., Senik S.V., Pozhvanov G.A., Prokopiev I.A., Boldyrev I.A., Manzhieva B.S., Amigud E Ya., Khakulova A.A., Serebryakov E.B. 2024. Uptake and metabolic conversion of exogenous phosphatidylcholines depending on their acyl chain structure in *Arabidopsis thaliana*. — *Int. J. Mol. Sci.* 25(1): 89.
- Lange M., Angelidou G., Ni Z., Criscuolo A., Schiller J., Bluher M., Fedorova M. 2021. AdipoAtlas: A reference lipidome for human white adipose tissue. — *Cell Reports Medicine*. 2: 100407.
- Liebisch G., Fahy E., Aoki J., Dennis E.A., Durand T., Ejsing C.S., Fedorova M., Feussner I., Griffiths W.J., Köfeler H., Merrill A.H. Jr., Murphy R.C., O'Donnell V.B., Oskolkova O., Subramaniam S., Wakelam M.J.O., Spener F. 2020. Update on LIPID MAPS classification, nomenclature, and shorthand notation for MS-derived lipid structures. — *J. Lipid Res.* 61(12): 1539–1555.
<https://doi.org/10.1194/jlr.S120001025>
- Liu Y., Wang S., Li L., Yang T., Dong S., Wei T., Wu S., Liu Y., Gong Y., Feng X., Ma J., Chang G., Huang J., Yang Y., Wang H., Liu M., Xu Y., Liang H., Yu J., Cai Y., Zhang Z., Fan Y., Mu W., Sahu S.K., Liu S., Lang X., Yang L., Li N., Habib S., Yang Y., Lindstrom A.J., Liang P., Goffinet B., Zaman S., Wegrzyn J.L., Li D., Liu J., Cui J., Sonnenschein E.C., Wang X., Ruan J., Xue J.Y., Shao Z.Q., Song C., Fan G., Li Z., Zhang L., Liu J., Liu Z.J., Jiao Y., Wang X.Q., Wu H., Wang E., Lisby M., Yang H., Wang J., Liu X., Xu X., Li N., Soltis P.S., Van de Peer Y., Soltis D.E., Gong X., Liu H., Zhang S. 2022. The *Cycas* genome and the early evolution of seed plants. — *Nat. Plants*. 8(4): 389–401.
- Messina A., Callahan D.L., Walsh N.G., Hoebee S., Green P. 2021. Testing the boundaries of closely related daisy taxa using metabolomic profiling. — *La Trobe. Journal contribution*.
<https://doi.org/10.26181/60246df54da75>
- Messina A., Walsh N.G., Hoebee S.E., Green P.T. 2013. A morphological assessment of the *Olearia phlogopappa* complex (Asteraceae: Astereae). — *Australian Systematic Botany*. 26: 31–80.
- Messina A., Walsh N.G., Hoebee S.E., Green P.T. 2014. A revision of *Olearia* section *Asterotriche* (Asteraceae: Astereae). — *Australian Systematic Botany*. 27: 199–240.
- Nokhsorov V.V., Senik S.S., Sofronova E.V., Kotlova E.R., Misharev A.D., Chirikova N.K., Dudareva L.V. 2022. Role of lipids of the evergreen shrub *Ephedra monosperma* in adaptation to low temperature in the cryolithozone. — *Plants*. 12(1): 15.
- Ohlrogge J., Thrower N., Mhaske V., Stymne S., Baxter M., Yang W., Liu J., Shaw K., Shorrosh B., Zhang M., Wilkerson C., Matthäus B. 2018. PlantFAdB: a resource for exploring hundreds of plant fatty acid structures synthesized by thousands of plants and their phylogenetic relationships. — *Plant J.* 96(6): 1299–1308.
- Petrova N.V., Shavarda A.L., Medvedeva N.A., Geltman D.V., Kotlova E.R., Sazanova K.V., Puzansky R.K. 2023. Profiling screening of 55 species of the genus *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae) as potential sources of ellagic acid. — *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 1: 87–100.
<https://doi.org/10.14258/jcprm.20230111388>
- Price E.J., Wilkin P., Sarasan V., Fraser P.D. 2016. Metabolite profiling of *Dioscorea* (yam) species reveals underutilised biodiversity and renewable sources for high-value compounds. — *Sci Rep.* 6: 29136.
- Reynolds T. 2005. Hemlock alkaloids from Socrates to poison aloes. — *Phytochemistry*. 66: 1399–1406.
- Reynolds T. 2007. The evolution of chemosystematics. — *Phytochemistry*. 68: 2887–2895.
- Řezanka T., Kolouchova I., Gharwalova L., Palyzová A., Sigler K. 2018. Lipidomic analysis: from archaea to mammals. — *Lipids*. 53: 5–25.
<https://doi.org/10.1002/lipd.12001>
- Sazanova K.V., Kotlova E.R., Puzansky R.K., Medvedeva N.A., Vinogradskaya M.A., Petrova N.V., Pavlova N.I., Geltman D.V., Shavarda A.L. 2019. The dynamics of metabolome of plant leaves of the genus *Euphorbia* (Euphorbiaceae) when changing the phenological phases. — *Bot. Zhurn.* 104(6): 967–978.

- Senik S.V., Kotlova E.R., Novikov A.V., Shavarda A.L., Psurtseva N. 2012. Formation of diacylglyceryltrimethylhomoserines in the surface culture of the basidiomycete *Flammulina velutipes*. — *Microbiology*. 81(5): 534–541.
- Senik S.V., Maloshenok L.G., Kotlova E.R., Shavarda A.L., Moiseenko K.V., Bruskin S.A., Koroleva O.V., Psurtseva N.V. 2015. Diacylglyceryltrimethylhomoserine content and gene expression changes triggered by phosphate deprivation in the mycelium of the basidiomycete *Flammulina velutipes*. — *Phytochemistry*. 117: 34–42.
- Senik S.V., Manzhieva B.S., Maloshenok L.G., Serebryakov E.B., Bruskin S.A., Kotlova E.R. 2023. Heterogeneous distribution of phospholipid molecular species in the surface culture of *Flammulina velutipes*: new facts about lipids containing α -linolenic fatty acid. — *Journal of Fungi (Basel)*. 9(1): 102.
- Sharanya C.S., Sabu A., Haridas M. 2020. Plant metabolomics: current status and prospects. — In: *Plant metabolites: methods, applications and prospects*. Springer, Singapore. P. 1–22.
- Suárez-Moo P.J., Vovides A.P., Griffith M.P., Barona-Gómez F., Cibrián-Jaramillo A. 2019. Unlocking a high bacterial diversity in the coralloid root microbiome from the cycad genus *Dioon*. — *PLoS One*. 14(2):e0211271.
- Tugizimana F., Mhlongo M.I., Piater L.A., Dubery I.A. 2018. Metabolomics in Plant Priming Research: The Way Forward? — *Int J Mol Sci*. 19(6): 1759.
- Xie L., Zhang T., Zheng L., Xie D., Jin J., Wang X. Jin Q. 2021. Chemical compositions and oxidative stabilities of *Ginkgo biloba* kernel oils from four cultivated regions in China. — *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 98: 541–550.
- Zidorn C. 2019. Plant chemophenetics - A new term for plant chemosystematics/plant chemotaxonomy in the macro-molecular era. — *Phytochemistry*. 163: 147–148. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.02.013>