

SYLWESTER ŚLUSARCZYK ^{1,2}

JOANNA JAŚPIŃSKA ²

LUKASZ PECIO ¹

ANNA STOCHMAL ¹

ELVIRA GILLE ³

ADAM MATKOWSKI ²

¹Zakład Biochemii i Jakości Plonów, IUNG-PIB, Puławy

²Katedra Biologii i Botaniki Farmaceutycznej, Ogród Botaniczny Roślin Leczniczych, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

³Biological Research Center "Stejarul", Piatra-Neamț, Romania
ogrodrosninleczniczych@mailplus.pl

Techniki metabolomiczne, oparte na LC-MS i NMR, w badaniach zmienności i różnorodności fitochemicznej roślin — na przykładzie roślin leczniczych

LC-MS and NMR — based metabolomics in studying phytochemical diversity and variability of medicinal plants

Rozwój wysokorozdzielczych technik spektroskopowych oraz ich wprowadzenie do analizy chemicznego składu roślin umożliwia coraz wydajniejsze i dokładniejsze poznawanie nawet bardzo skomplikowanego profilu metabolitów wyspecjalizowanych. Tradycyjnie, rośliny lecznicze stanowią obiekt badań fitochemicznych ze względu na zawartość substancji leczniczych lub profilaktycznych. Innym obiektem są rośliny jadalne, które dostarczają w diecie metabolitów o działaniu prozdrowotnym (polifenole, triterpenoidy, składniki olejków eterycznych). Z ogromnej ilości danych, zgromadzonych przez dekady badań, obejmujących także izolację, oczyszczanie i określanie struktury tych metabolitów, wyłoniła się wyraźna tendencja, że zmienność osobnicza, wewnątrz- i międzypopulacyjna/gatunkowa jest bardzo wysoka i mało przewidywalna. Nie udało się dotąd wypracować spójnej teorii tłumaczącej istotę tej zmienności, jako przejawu plastyczności fenotypowej roślin.

Główne trudności w opisanu i zrozumieniu zmienności fitochemicznej to: 1. Dynamiczny charakter metabolomu, podlegającego ciągłym zmianom w życiu organizmu. Powoduje to konieczność analizy dużej liczby jednolitych próbek w celu uśrednienia oraz

uwzględniania czynników endogennych i środowiskowych, wpływających na stan metaboliczny obiektu; 2. Konieczność wiarygodnej identyfikacji taksonomicznej materiału, także na poziomie niższym niż gatunek, z uwzględnieniem zmienności na poziomie molekularnym — nie zawsze współgrającej z obserwowanym stanem metabolicznym; 3. Nie zawsze możliwe jest zidentyfikowanie wszystkich wykrywanych metabolitów bez ich wyizolowania, kłopotliwego w przypadku substancji zawartych w małych ilościach.

W programie badawczym Ogrodu Botanicznego Roślin Leczniczych i Zakładu Biologii i Botaniki Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu i we współpracy z innymi ośrodkami, prowadzimy kompleksową ocenę różnorodności wybranych, charakterystycznych chemotaksonomicznie klas metabolitów — fenylopropanoidów: glikozydów izoflawonowych i pochodnych kwasów hydroksycynamonowych, a także diterpenoidów, alkaloidów izochinolinowych, lotnych fenylopropanów i mono- oraz seskwiterpenów. Obiektami są rośliny lecznicze z kolekcji OBRL i z populacji naturalnych: *Salvia glutinosa*, *S. yangii*, *S. abrotanoides*, *Iris domestica*, *Chelidonium majus* i inne. Rośliny są także uprawiane w hydroponice i traktowane czynnikami stresowymi w celu rozpoznania zakresu zmienności pod wpływem środowiska. Duża ilość danych eksperymentalnych wymaga obróbki statystycznej dla zilustrowania zależności. W tym celu stosujemy metody chemometryczne - analizy wieloczynnikowe - głównych składowych (PCA) oraz analizy dyskryminacyjne (PLS-DA i OPLS-DA). Analizy metabolomiczne pozwalają na scharakteryzowanie zakresu różnic w obrębie populacji oraz pomiędzy nimi, a także zmian powstałych wskutek indukcji czynnikami środowiska. Konieczne jest posiadanie kompletnej informacji o badanych próbach, w tym charakterystyki molekularnej oraz jak najdokładniejszych danych środowiskowych w przypadku populacji naturalnych. Wsparcie finansowe: grant FUGA DEC/2014/12/S/NZ9/00715, MNiSW grant 215259/E-394/SPUB/2-16/1.