

03.02.00 – ОБЩАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 574.24 (582.29) + 54.061

Статья поступила в редакцию 20.06.2017

К ИТОГАМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО СКРИНИНГА НАКОПЛЕНИЯ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В ТАЛЛОМАХ ЛИШАЙНИКОВ

© 2017

Горина Мария Владимировна, аспирант кафедры экологии, ботаники и охраны природы
Кавеленова Людмила Михайловна, доктор биологических наук, профессор,
заведующий кафедрой экологии, ботаники и охраны природы
Платонова Светлана Александровна, ассистент кафедры химии
*Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королёва
(г. Самара, Российская Федерация)*

Аннотация. В данной статье рассматривается вопрос о влиянии биотопических условий на накопление вторичных соединений в талломах лишайников. Вторичные метаболиты, свойственные обмену веществ различных групп организмов, широко представлены у симбиотических организмов – лишайников, причем значительное число данных соединений является фенольными производными. Авторами статьи представлены результаты спектрофотометрического сканирования спиртовых экстрактов из талломов лишайников трех видов – *Xanthoria parietina* (L.) Belt., *Parmelia sulcata* Tayl., *Vulpicida pinastri* (Scop.) J.-E. Mattsson & M.J. Lai, отобранных в различных лесных сообществах Красносамарского леса (Самарская область) на 9 пробных площадях, растительные сообщества которых представляли собой фрагменты естественных лесов (березняков, осинников, липняков, дубрав) и лесонасаждения – ельника. Лесные сообщества различались по положению в рельефе, составу древесного яруса, связанным с высотой и сомкнутостью насаждений микроклиматическим условиям. Полученные путем настаивания проб с 96% этанолом экстракты анализировали с использованием детектора AZURA UV/VIS UVD 2.1 L (190–750 нм, Knauer) в лаборатории кафедры химии Самарского университета для получения спектров поглощения в УФ-области с помощью программы ClarityChrom. Проведенное исследование может рассматриваться как первоначальный этап биоэкологического скрининга, позволяющего выяснить наличие зависимости накопления вторичных метаболитов от условий местообитания применительно к условиям лесных экосистем в различных районах Самарской области. При спектрофотометрическом исследовании экстрактов продемонстрировано наличие видоспецифичных особенностей спектров, свидетельствующее о различиях качественного состава экстрактов. Для экстрактов, полученных из образцов одного и того же вида лишайников, были выявлены количественные, а для экстрактов *Xanthoria parietina* (L.) Belt. и *Vulpicida pinastri* – также и качественные различия, связанные с количественными различиями в накоплении вторичных метаболитов. Данные различия предположительно связаны с различиями биотопических условий произрастания талломов трех изучавшихся видов лишайников.

Ключевые слова: Самарская область; лишайники; *Xanthoria parietina* (L.) Belt.; *Parmelia sulcata* Tayl.; *Vulpicida pinastri* (Scop.) J.-E. Mattsson & M.J. Lai; спиртовые экстракты талломов; спектрофотометрическое изучение; накопление вторичных метаболитов; влияние биотопических условий; качественные и количественные различия состава.

Лишайники как специфическая форма симбиотических организмов, сформированная взаимодействием гриба (микобионт) и фотосинтетического партнера (фикобионт, в качестве которого выступают водоросли либо цианобактерии), представлены в различных типах экосистем более чем 20 000 идентифицированных видов [1; 2]. Они являются распространенным компонентом природных и антропогенно трансформированных экосистем, обитают на коре, стволах и листьях деревьев, почве, а также осваивают местообитания, малопригодные для высших растений [3]. Для Самарской области видовое разнообразие лишайников, по настоящим оценкам, определяется показателем свыше 350 [4]. При этом частота встречаемости отдельных видов неодинакова – при наличии исключительно редких таксонов [5] встречаются и повсеместно распространенные в различных типах лесонасаждений. Для последних, характеризующихся значительной экологической пластичностью, интересным моментом представляется способность адаптироваться к условиям местообитания, в том

числе изменять метаболическую активность, синтезируя вторичные метаболиты.

Вторичные соединения, которые считаются не участвующими непосредственно в основном обмене веществ, обнаружены у тысяч видов высших растений, различных групп животных, грибов [6]. Только в растениях идентифицировано более 100 тыс. индивидуальных соединений вторичного метаболизма, ежегодно к ним добавляются десятки новых [7]. Вторичные соединения, значение которых обнаруживается на уровне организма, но не клетки, участвуют в осуществлении различных экологических функций в качестве хемоэффекторов.

Вторичные метаболиты лишайников, формируемые микобионтом, относятся к различным классам соединений, в том числе – депсидам, депсидонам, дибензофуранам, ксантонам, производным терпенов и пр. [8; 9]. Как и у высших растений, в талломах лишайников высоким разнообразием характеризуется группа фенольных соединений, специфичных для микобионта многих видов лишайников и не свой-

ственных другим организмам [10]. Наиболее распространенными среди них считаются усниновая кислота, депсиды, депсидоны и антрахиноны. В структуре депсидов и депсидонов обнаружены фрагменты полизамещенных фенолов или фенолкарбоновых кислот, находящихся в различных комбинациях. Большинство лишайниковых веществ нерастворимо или слабо растворимо в воде [11]. Кроме того, лишайники являются источником ферментов, полисахаридов, жирных кислот, обладающих значительным фармакологическим потенциалом [11; 12]. Лишайниковые вещества обнаруживают широкий спектр биологических эффектов, включая антибиотические, антимитотические, противовирусные, противовоспалительные, обезболивающие, жаропонижающие, антипролиферативные и цитотоксические [13–15]. На долю вторичных соединений в талломах лишайников может приходиться до 5% [16], по другим источникам – до 20% сухой массы [17]. Сведения о числе идентифицированных лишайниковых вторичных метаболитов неоднозначны, в силу их продолжающегося изучения.

Вопрос о влиянии биотопических условий на синтез и накопление вторичных метаболитов лишайников активно разрабатывается. Имеются сведения о зависимости накопления органических метаболитов в лишайниках от различных абиотических факторов среды: освещенности, температуры, влажности [18; 19], а также от комплекса биотопических условий. Так, для Центральной Якутии было показано, что содержание лишайниковых кислот в талломах лишайников зависело от типа соснового леса, в котором они были отобраны [20]. Установленные различия, по мнению авторов, могут объясняться как действием абиотических факторов среды (свет, температура, влажность), так и конкуренцией со стороны других видов растений. Для условий лесостепи-степи, в том числе Самарской области, вопрос о влиянии биотопа на накопление вторичных метаболитов лишайниками нельзя считать изученным. Данная работа представляет полученные нами предварительные итоги спектрофотометрического скрининга вторичных метаболитов в талломах лишайников *Xanthoria parietina* (L.) Belt., *Parmelia sulcata* Tayl., *Vulpicida pinastri* (Scop.) J.-E. Mattsson & M.J. Lai., распространенных в лесных экосистемах Самарской области.

Материалы и методы исследований

Пробы талломов лишайников трех видов – *Xanthoria parietina* (L.) Belt., *Parmelia sulcata* Tayl., *Vulpicida pinastri* (Scop.) J.-E. Mattsson & M.J. Lai были отобраны в летний период 2016 г. в Красносамарском лесном массиве (долина р. Самары, Кинельский р-н Самарской области) на 9 пробных площадях, растительные сообщества которых представляли собой фрагменты естественных лесов – березняков (пробные площади 24, 8б), осинников (пробные площади 8, 21), липняков (пробные площади 8а, 6а), дубрав (пробные площади 20, 25) и одного искусственного ельника (пробные площади е1). Названные сообщества различались по биотопическим условиям: положению в рельефе, составу древесного яруса, связанным с высотой и сомкнутостью насаждений микроклиматическим условиям (освещенностью, влажностью воздуха и пр.). Образцы талломов лишайников снимали со стволов с верхним слоем коры и помещали в этикетированные бумажные пакетики. В лабораторных условиях восходящие лопасти тал-

лома отделяли от субстрата и от его фрагментов, высушивали до воздушно-сухого состояния, измельчали вручную до частиц размером 1–3 мм. Навески по 20 мг подготовленного материала экстрагировали 10 мл 96% этанола путем настаивания при комнатной температуре в темноте в течение 2 недель. Полученные экстракты сливали путем декантации и анализировали с использованием детектора AZURA UV/VIS UVD 2.1 L (190–750 нм, Knauer) в лаборатории кафедры химии Самарского университета для получения спектров поглощения в УФ-области с помощью программы ClarityChrom. Пробы объемом 20 мкл вводили непосредственно в ячейку детектора прибора. Полученные результаты анализировали, используя пакет Excel.

Результаты и их обсуждение

В изучении вторичных метаболитов лишайников широко используются современные инструментальные аналитические методы, в том числе хроматография и спектрофотометрия. Физической основой спектрофотометрического определения веществ является избирательное поглощение их растворами монохроматического света, а само поглощение обусловливается электронными переходами с орбиты донорного заместителя на вакантную орбиту бензольного кольца или акцепторного заместителя [21]. Распространенные среди вторичных метаболитов фенольные соединения характеризуются наличием в УФ-области спектра двух интенсивных полос поглощения в длинноволновой области: для флавоноидов 320–380 нм (I полоса) и в коротковолновой 240–270 нм (II полоса), для флавонолов 350–390 нм и 250–270 нм соответственно, дополнительный максимум при 300 нм. Другие источники указывают для флавоноидов в УФ-спектре характерные их максимумы поглощения в областях 250–270 нм и 330–370 нм [22–24]. На данном этапе нашего исследования было принципиально важно получить ответ на вопрос: имеются ли количественные либо качественные различия в накоплении вторичных метаболитов талломами лишайников в зависимости от видовой принадлежности и/или биотопических условий произрастания. Для получения ответа в качестве метода скрининга было избрано спектрофотометрическое сканирование экстрактов без предварительного разделения, которое позволило нам оперативно получить необходимую информацию. Показания прибора, относящиеся к результатам изучения каждого из трех видов лишайников для образцов, собранных в разных лесных биотопах, были использованы для построения спектров, которые мы для удобства разделили на две спектральные области (рис. 1, 2).

Для спектральной области 250–350 нм, в которой предположительно могли быть обнаружены два названных выше максимума поглощения, соответствующие фенольным соединениям, три изучаемых вида лишайников обнаружили разную картину спектров и продемонстрировали заметные особенности для экстрактов из различных лесных биотопов. Так, для спиртовых экстрактов из талломов *Xanthoria* и *Vulpicida* мы отметили неодинаковую выраженность пиков в областях 250–290 и 290–330 нм – от максимальной выраженности (Kc20) до практического отсутствия (Kc24), а также в области 290–330 нм.

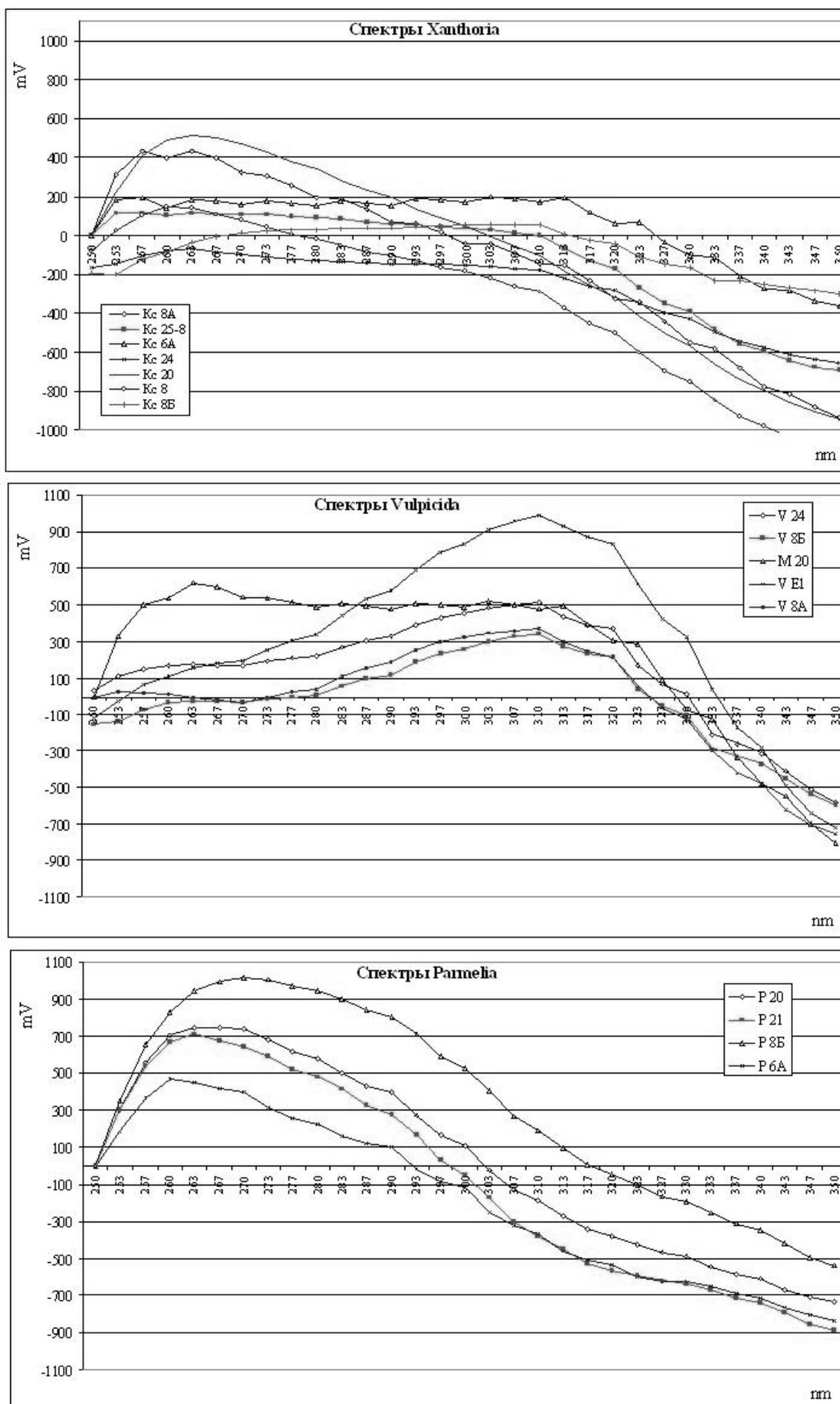


Рисунок 1 – Сравнение спектров поглощения спиртовых экстрактов из талломов лишайников, собранных в различных биотопических условиях Красносамарского леса (спектральная область 250–350 нм)

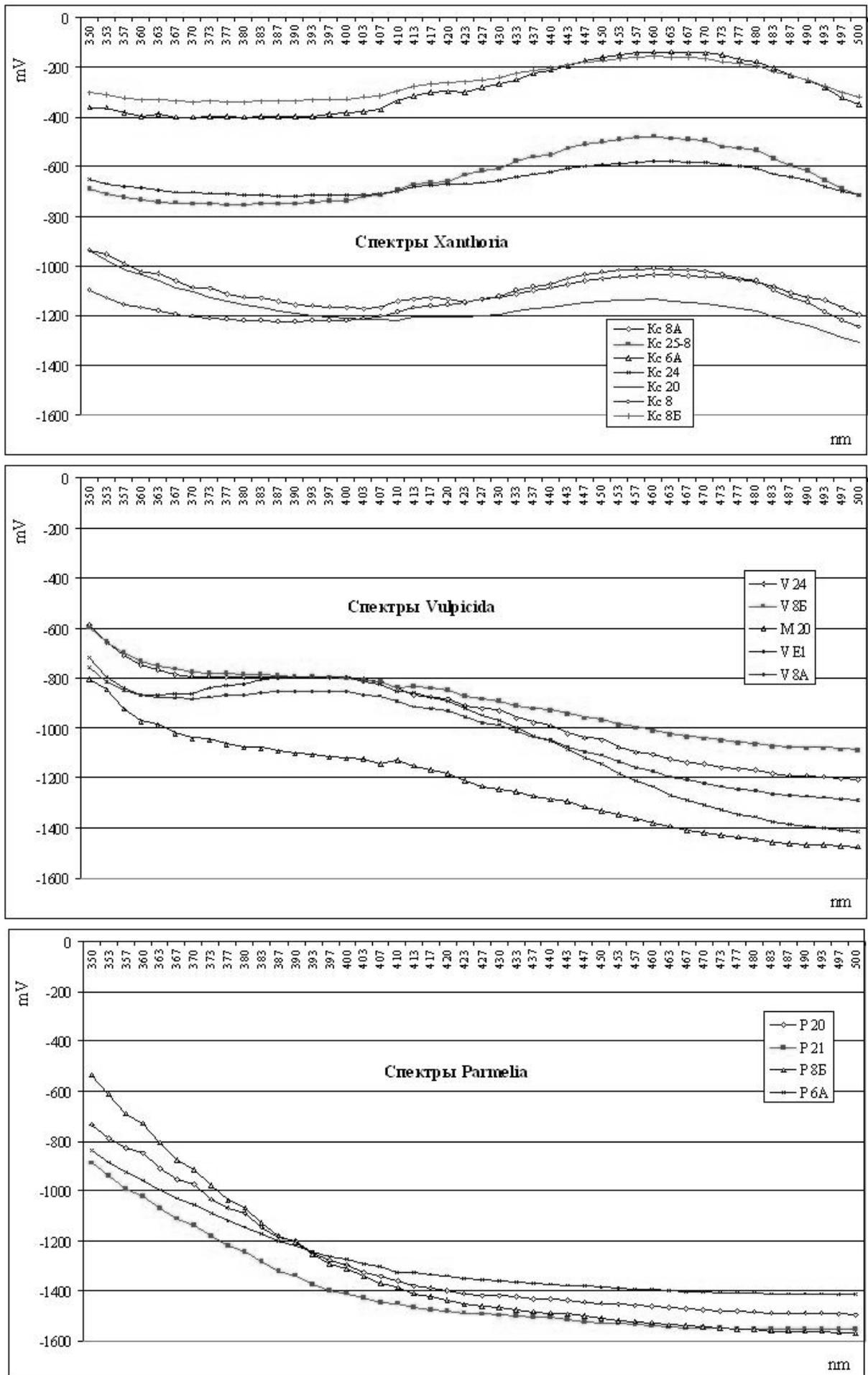


Рисунок 2 – Сравнение спектров поглощения спиртовых экстрактов из талломов лишайников, собранных в различных биотопических условиях Красносамарского леса (спектральная область 350–500 нм)

В целом же, анализируя особенности картины спектров для трех изучавшихся видов, мы можем указать, что в области 250–350 нм экстракты *Parmelia sulcata* обнаруживали исключительно количественные различия по выраженности (высоте) кривых, что можно интерпретировать как различный уровень накопления одних и тех же соединений. Для *Xanthoria parietina* различия затрагивали и качественный состав, и уровень накопления вторичных метаболитов. У *Vulpicida pinastri* один из всех проанализированных экстрактов отличался по картине спектра, имея выраженный пик с максимумом 263 нм, все прочие отличались количественно (по высоте кривых). В области 350–500 нм экстракты трех изучавшихся лишайников демонстрировали исключительно количественные различия, которые были максимально выражены у *Xanthoria*, минимально – у *Parmelia*.

Таким образом, на данном этапе исследования для произрастающих в лесных сообществах в степной зоне лишайников *Xanthoria parietina*, *Parmelia sulcata* и *Vulpicida pinastri* с помощью спектрофотометрического скрининга спиртовых экстрактов подтверждена способность изменять накопление вторичных метаболитов в зависимости от тонких биотопических различий местообитания. Мы предполагаем, что в первую очередь подобными действующими факторами могут являться флуктуирующие уровни освещенности и влажности, и в дальнейшем проверим данное предположение, сопоставляя данные скрининга с детальной многофакторной оценкой биотопических условий произрастания тестируемых лишайников.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Bates S.T., Cropsey G.W., Caporaso J.G., Knight R., Fierer N. Bacterial communities associated with the lichen symbiosis // *Appl. Environ. Microbiol.* 2011. Vol. 77. P. 1309–1314.
2. Kosanic M., Manojlovic N., Jankovic S., Stanojkovic T., Rankovic B. *Evernia prunastri* and *Pseudoevernia furfuraceae* lichens and their major metabolites as antioxidant, antimicrobial and anticancer agents // *Food and Chemical Toxicology.* 2013. Vol. 53. P. 112–118.
3. Vrablikova H., McEvoy M., Solhaug K.A., Bartak M., Gauslaa Y. Annual variation in photoacclimation and photoprotection of the photobiont in the foliose lichen *Xanthoria parietina* // *J. Photoch. Photobio.* 2006. Vol. 83. P. 151–162.
4. Государственный доклад о состоянии окружающей среды и природных ресурсов Самарской области за 2015 год. Выпуск 26. Самара, 2016. 296 с.
5. Корчиков Е.С. Лишайники Самарской Луки и Красносамарского лесного массива. Самара: Изд-во «Самарский университет», 2011. 320 с.
6. Запроматов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. М.: Высшая школа, 1974. 213 с.
7. Хелдт Г.-В. Биохимия растений. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. 471 с.
8. Kosanic M., Manojlovic N., Jankovic S., Stanojkovic T., Rankovic B. *Evernia prunastri* and *Pseudoevernia furfuraceae* lichens and their major metabolites as antioxidant, antimicrobial and anticancer agents // *Food and Chemical Toxicology.* 2013. Vol. 53. P. 112–118.
9. Manojlovic N.T., Vasiljevic P.J., Maskovic P.Z., Juskovic M., Bogdanovic-Dusanovic G. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of lichen *Umbilicaria cylindrica* (L.) Delise (Umbilicariaceae) // *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2012. P. 1–8.
10. Shukla V., Joshi G.P., Rawat M.S.M. Lichens as a potential natural source of bioactive compounds: a review // *Phytochem. Rev.* 2010. Vol. 9. P. 303–314.
11. Huneck S., Yoshimura I. Identification of lichen substances. Berlin–Heidelberg–New York: Springer Verlag, 1996. 493 p.
12. Boustie J., Tomasi S., Grube M. Bioactive lichen metabolites: alpine habitats as an untapped source // *Phytochemistry Rev.* 2011. Vol. 10. P. 287–307.
13. Luo H., Ren M., Lim K.M., Koh Y.J., Wang L.S., Hur J.S. Antioxidative activity of lichen *Thamnolia vermicularis* in vitro // *Mycobiology.* 2006. Vol. 34. P. 124–127.
14. Kosanic M., Rankovic B., Stanojkovic T. Antioxidant, antimicrobial and anticancer activity of 3 *Umbilicaria* species // *J. Food Sci.* 2012. Vol. 77. P. 20–25.
15. Molnar K., Farkaš E. Current results on biological activities of lichen secondary metabolites: a review // *Zeitschrift fur Naturforschung.* 2010. Vol. 65. P. 157–173.
16. Щербакова А.И., Коптина А.В., Канарский А.В. Биологически активные вещества лишайников // *Известия вузов. Лесной журнал.* 2013. № 3. С. 7–16.
17. Загоскина Н.В., Николаева Т.Н., Лапшин П.В., Заварзин А.А., Заварзина А.Г. Водорастворимые фенольные соединения у лишайников // *Микробиология.* 2013. Т. 82, № 4. С. 434–441.
18. Равинская А.П., Вайнштейн Е.А. Влияние некоторых экологических факторов на содержание лишайниковых веществ // *Экология.* 1975. № 3. С. 82–85.
19. Rundel P.W. Ecological role of secondary lichen substances // *Biochemical Systematics and Ecology.* 1978. Vol. 6. P. 157–170.
20. Прокопьев И.А., Порядина Л.Н., Филиппова Г.В., Шейн А.А. Содержание вторичных метаболитов в лишайниках сосновых лесов Центральной Якутии // *Химия растительного сырья.* 2016. № 3. С. 73–78.
21. Федосеева Г.М., Мирович В.М., Горячкина Е.Г., Переломова М.В. Фитохимический анализ растительного сырья, содержащего флавоноиды. Методическое пособие по фармакогнозии. Раздел: Химический анализ лекарственных растений. Иркутск, 2009. 67 с.
22. Andersen Q.M., Markham K.K. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications.* CRC press Taylor & Group, 2006. 1197 p.
23. Дренин А.А. Флавоноиды и изофлавоноиды трех видов растений родов *Trifolium* L. и *Vicia* L.: автореф. дис. ... канд. хим. наук. Сургут, 2008. 24 с.
24. Лобанова И.Ю., Турецкова В.Ф. Выделение и изучение состава флавоноидов листьев осины обыкновенной // *Химия растительного сырья.* 2011. № 2. С. 117–122.

**PRELIMINARY RESULTS
OF SPECTROPHOTOMETRIC SCREENING
OF SECONDARY METABOLITES ACCUMULATION IN LICHEN THALLOMS**

© 2017

Gorina Maria Vladimirovna, postgraduate student of Ecology, Botany and Nature Protection Department
Kavelenova Lyudmila Mikhailovna, doctor of biological sciences, professor,
head of Ecology, Botany and Nature Protection Department
Platonova Svetlana Alexandrovna, assistant of Chemistry Department
Samara National Research University (Samara, Russian Federation)

Abstract. This paper discusses the influence of biotopic conditions on the secondary compounds accumulation in lichen thalloms. Secondary metabolites inherent in the metabolism of various groups of organisms are widely represented in symbiotic organisms – lichens, with a significant number of these compounds being phenolic derivatives. The authors of the paper present the results of spectrophotometric scanning of alcohol extracts from lichen thalloms of three species: *Xanthoria parietina* (L.) Belt., *Parmelia sulcata* Tayl., *Vulpicida pinastri* (Scop.) J.-E. Mattsson & M.J. Lai, sampled in different forest communities of the Krasnosamarsky forest (Samara Region), in 9 plots, where plant communities were fragments of natural forests (birch, aspen, linden, oak) and forest stands. Forest communities differed in their position in the relief, the composition of the arboreal stage, associated with the height and closeness of the plantations to microclimate conditions. The extracts obtained by infusion of 96% ethanol samples were analyzed using the AZURA UV / VIS UVD 2.1 L detector (190–750 nm, Knauer) in the laboratory of Chemistry Department of Samara University to obtain absorption spectra in the UV region using the ClarityChrom program. The study can be considered as an initial stage of bioecological screening, which makes it possible to ascertain the dependence of the secondary metabolites accumulation on habitat parameters in relation to the conditions of forest ecosystems in different parts of the Samara Region. The spectrophotometric study of the extracts demonstrated the presence of species-specific features of the spectra, indicating the differences in the qualitative composition of the extracts. For extracts obtained from samples of lichens were found spectra differences: quantitative – for all the species, and also qualitative – for *Xanthoria parietina* and *Vulpicida pinastri* extracts, related to qualitative and quantitative differences in the accumulation of secondary metabolites. These differences are presumably associated with differences in the biotopic conditions of growth of the thalli of the three studied lichen species.

Keywords: lichens; Samara Region; *Xanthoria parietina* (L.) Belt.; *Parmelia sulcata* Tayl.; *Vulpicida pinastri* (Scop.) J.-E. Mattsson & M.J. Lai; alcohol extracts of thalli; spectrophotometric study; secondary metabolites accumulation; biotopic conditions influence; qualitative and quantitative differences of composition.

УДК 595.79

Статья поступила в редакцию 17.06.2017

**ОСОБЕННОСТИ ПАРАЗИТИЗМА НАЕЗДНИКОВ-ЭВЛОФИД (НУМЕНОПТЕРА: EULOPHIDAE)
СРЕДНЕГО ПОВОЛЖЬЯ**

© 2017

Мищенко Андрей Владимирович, кандидат биологических наук, доцент кафедры географии и экологии
Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова
(г. Ульяновск, Российская Федерация)

Аннотация. В данной статье приводится описание всех обнаруженных форм паразитизма наездников-эвлофид Среднего Поволжья, базирующееся на многолетнем опыте изучения биологии этой важной группы перепончатокрылых и значительном фактическом материале. Наездники-эвлофиды (Hymenoptera: Eulophidae) – семейство относительно мелких (не более 5 мм, обычно 1,5–2 мм) паразитических перепончатокрылых, личинки которых развиваются на фитофагах различных групп (прежде всего чешуекрылых, двукрылых, жесткокрылых). Многие виды растительноядных насекомых, подвергающихся заражению эвлофидами, являются вредителями лесного и сельского хозяйства, поскольку используют в качестве кормовых растения различных хозяйственно значимых семейств. Особую группу фитофагов составляют минёры, личинки которых развиваются скрыто в растительных тканях (например, мезофилле листа), образуя, часто видоспецифичные, повреждения – мины. Эвлофиды способны заражать минёров, находящихся внутри минирующих повреждений и недоступных другим видам энтомофагов, тем самым обеспечивая биологическую защиту культурным и дикорастущим растениям. При выполнении работы было проанализировано паразитическое развитие более 200 видов наездников данной группы, обнаруженных на территории исследований. В Среднем Поволжье выявлены представители всех 4-х подсемейств Eulophidae (Euderinae, Eulophinae, Entedoninae и Tetrastichinae), включающих более 40 родов [1–3]. Для указанных групп наездников приводятся особенности паразитического развития на хозяине, формы взаимодействия с другими видами эвлофид и внутривидовые отношения паразитирующих стадий.

Ключевые слова: эктопаразитизм; эндопаразитизм; гregarные паразиты; солитарные паразиты; эвлофиды; фитофаги; симблицид; гиперпаразитизм; мультипаразитизм; биологический контроль; минирующие насекомые; Euderinae; Eulophinae; Entedoninae; Tetrastichinae; Nepticulidae; Tischeriidae; Gelechiidae; Gracillariidae; Lyonetiidae; Yponomeutidae.