

УДК 57.04

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ЛИШАЙНИКОВЫХ ВЕЩЕСТВ МЕТОДОМ МИКРОКРИСТАЛЛИЗАЦИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

© Касьянова А.П., Корчиков Е.С.

Самарский национальный исследовательский университет
имени академика С.П. Королева, г. Самара, Российская Федерация

e-mail: anastasiakasyanova22@mail.ru, evkor@inbox.ru

Для мониторинга экологических факторов можно использовать разные биологические объекты: цветковые растения, мохообразные или лишайники. Лишайники же, обитая в наземно-воздушной среде, позволяют охарактеризовать экологические факторы именно в данных условиях, в частности влажность воздуха; в отличие от сосудистых растений, которые, как правило, показывают влажность почвы. Однако, чтобы проводить фитоиндикацию биотопа с помощью лишайников, нужно для начала изучить обратный процесс влияния экологических факторов на накопление в них химических веществ.

Органические вещества, которые встречаются в лишайниках, разделяют на две группы: первичные метаболиты и вторичные метаболиты лишайников. К первичным метаболитам обычно относятся белки, аминокислоты, витамины, полисахариды и прочие органические соединения. Вторичными метаболитами лишайников являются соединения различной природы, а именно: ряд производных аминокислот, сахароспирты, алифатические кислоты, γ -, δ - и макроциклические лактоны, моноциклические ароматические вещества, хиноны, хромоны, ксантоны, дибензофураны, депсиды, депсидоны, депсоны, терпеноиды, стероиды и каротиноиды. Набор лишайниковых веществ видоспецифичен [1].

Методы исследования. Образцы были собраны в Красносамарском лесном массиве, так как он является уникальным и единственным достаточно крупным лесным массивом для степных зон Самарской области. Таким образом, в сосняке нами были собраны такие виды как *Evernia mesomorpha*, *Hypogymnia physodes*, *Parmelia sulcata*; в березняке – *Hypogymnia physodes*, *Parmelia sulcata*; в осиннике – *Xanthoria parietina*; в дубраве – *Cladonia fimbriata*, *Hypogymnia physodes*, *Parmelia sulcata*. Для сравнения вторичных метаболитов эти сообщества были рассмотрены с двух позиций – на арене и в пойме.

Собранные образцы были очищены, взвешены в количестве от 0,005 до 0,006 г на весах СВЛ 220Н и залиты 0,2 и 0,24 мл ацетона соответственно в соотношении 1:40 на 7 дней. Мы выбрали в качестве элюента ацетон, в котором лучше растворяется большинство изучаемых нами вторичных метаболитов лишайников. После нам необходимо было получить чистые вещества, для чего мы использовали метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) [2]. На алюминиевых пластинах с силикагелем снизу прочерчивают мягким карандашом 10 точек на расстоянии 10 см друг от друга. Затем на каждую точку наносят 5 раз капилляром ацетоновый экстракт лишайника с использованием прибора УПС-1 при температуре 70–80°C. После пластины помещают на 10 минут в пары ледяной уксусной кислоты, а потом в хроматографическую камеру с сольвентом С (толуол и уксусная кислота в соотношении 17:3 мл соответственно). Через 40–50 минут, когда растворитель дойдет почти до конца пластины, отмечают простым карандашом линию финиша, достают и сушат около 30 минут. Затем

пластины помещают в УФС 254/365 и просматривают в УФ-лучах при $\lambda = 254$ нм и 380 нм. При этом карандашом обводят светящиеся пятна на всех 6 пластинах из них 3 пластины смачивают 10% H_2SO_4 и сразу же нагревают в термостате ШС-80–01 СПУ при температуре 110°C до проявления оранжевой норстиктовой кислоты в контроле. Определяют вещества по определителю Orange A., James P.W., White F.J. *Microchemical methods for the identification lichens* [2] и идентифицируют светящиеся пятна в УФ-лучах на бесцветных пластинах. В последующем на них скальпелем снимают силикагель с чистым веществом в пробирку Эппендорфа и сразу добавляют 4–5 капель чистого ацетона (элюируют). По прошествии двух дней капилляром берут каплю вещества из пробирки и перемещают на предметное стекло. После высыхания ацетона предметное стекло просматривают в микроскопе Микмед-6 на наличие кристаллов кислот и фотографируют при помощи камеры Levenhuk C1400 NG и программы TopView 3.7.27.74. Это является таким методом определения вторичных метаболитов лишайников, как микрокристаллизация.

Зная форму и размеры конкретных веществ, мы приступили к количественной оценке лишайниковых веществ в ацетоновых вытяжках. Для чего мы брали каплю полученного экстракта, капали на предметное стекло и просматривали на микроскопе под увеличением $\times 280$. Четыре поля зрения каждой капли фотографировали, чтобы оценить количественное и качественное содержание вторичных метаболитов лишайников методом микрокристаллизации по пятибалльной шкале.

Результаты. В исследуемых видах лишайников после ТСХ и метода микрокристаллизации нами было обнаружено 6 видов лишайниковых веществ и были получены фотографии этих чистых веществ: атранорин, диварикатовая кислота, париетин, салациновая, физодаловая, фумарпротоцетраровая кислоты.

Согласно методу микрокристаллизации преобладающее количество лишайниковых кислот образуется в сообществах на арене, и только фумарпротоцетраровая кислота в большем количестве обнаружена в пойменной дубраве. Двухфакторный дисперсионный анализ выявил влияние положения в рельефе и отсутствие такового в зависимости от типа сообществ на накопление вторичных метаболитов лишайников.

Библиографический список

1. Мучник Е.Э. Учебный определитель лишайников Средней России: учебно-методическое пособие. Рязань: Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина, 2011. 359 с.
2. Orange A., James P.W., White F.J. *Microchemical methods for the identification lichens*. London: British Lichen Society, 2010. 104 p.