

УДК 577.121:582.29

## СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ МЕТАБОЛИТОВ В ЛИШАЙНИКАХ *SETRARIA LAEVIGATA* И *FLAVOCETRARIA CUCULLATA*

© *И.А. Прокорьев*<sup>1,2\*</sup>, *И.В. Слепцов*<sup>1</sup>, *Л.Н. Порядина*<sup>1</sup>, *С.М. Рожина*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, пр. Ленина, 41, Якутск, 677980 (Россия), e-mail: ilya.a.prokoriev@gmail.com*

<sup>2</sup> *Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, ул. Профессора Попова, 2, Санкт-Петербург, 197376 (Россия)*

Методом газовой хромато-масс-спектрометрии получены метаболомные профили лишайников *Flavocetraria cucullata* и *Cetraria laevigata*, образцы которых отбирались ежемесячно в течение года в сосново-брусничном лесу на территории Центральной Якутии. Анализ метанольных экстрактов лишайников проводили методом газовой хромато-масс-спектрометрии. В полученных метаболомных профилях изученных лишайников было выявлено 77 метаболитов, из которых 44 идентифицировано. Среди них 5 полиолов, 8 моно- и дисахаридов, 8 аминокислот, 8 карбоновых кислот, 5 жирных кислот. На основе метаболомных профилей лишайников строили статистические модели, с использованием иерархической кластеризации по методу Уорда. Показано, что метаболомы исследуемых лишайников, собранных с июня по август (климатическое лето), отличались от образцов, отобранных с октября по апрель (климатическая зима). Выявлено, что в летний период повышалась интенсивность накопления полиолов, гидроксипролина и сахарозы, что связано, с одной стороны, с активизацией фотосинтетических процессов, с другой – с устойчивостью к обезвоживанию. В то время как в период климатической зимы наблюдалось повышенное накопление ненасыщенных жирных кислот и глицерина что, вероятно, связано с защитными функциями данных соединений при воздействии низких температур.

*Ключевые слова:* газовая хромато-масс-спектрометрия, климат, метаболомика, криопротекторы, осмопротекторы.

*Работа выполнена в рамках государственных заданий ИБПК СО РАН и БИН РАН на 2017-2021 гг. «Фундаментальные и прикладные аспекты изучения разнообразия растительного мира Северной и Центральной Якутии» (АААА-А17-117020110056-0); «Разработка биопрепаратов из тканей растений и животных Якутии на основе изучения особенностей их биохимического состава и механизмов адаптации к условиям Севера (АААА-А17-117020110055-3); «Оценка изменений корреляционной структуры метаболитных сетей в процессе роста и развития грибов и растений с позиций системной биологии» (АААА-А18-118032390136-5) и поддержана грантом РФФИ 18-44-140019 «Качественные и количественные характеристики криопротекторов лишайников Арктики и Субарктики».*

### **Введение**

Лишайники – это комплексные организмы, включающие в себя грибной (микобионт) и водорослевый (и/или цианобактериальный) (фотобионт) компоненты. Вследствие того, что лишайники представлены несколькими организмами и обладают специфическими особенностями морфологии, анатомии и физиологии, они отличаются большей устойчивостью к неблагоприятным условиям среды по сравнению с высшими растениями, причем могут существовать там, где не выживают другие фотосинтезирующие организмы [1].

*Прокорьев Илья Андреевич* – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: ilya.a.prokoriev@gmail.com

*Слепцов Игорь Витальевич* – кандидат биологических наук, научный сотрудник, e-mail: Negroxasg@mail.ru

*Порядина Лена Николаевна* – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: poryadina-lena@rambler.ru

*Рожина Сахаяна Михайловна* – инженер, e-mail: sahayana-rozhina@mail.ru

По состоянию на начало 2019 года лишенобиота Центральной Якутии представлена 273 видами лишайников из 90 родов отдела сумчатых лишайников (*Ascomycota*). На территории Якутии лишайники представляют собой существенный компонент растительного покрова как в тундровой, так и в таежной зонах.

\* Автор, с которым следует вести переписку.

Хорошо известна устойчивость лишайников к низким температурам и обезвоживанию. Так, показано, что процессы дыхания и фотосинтеза, у некоторых видов лишайников могут протекать при температурах  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$  и даже ниже [2, 3]. Кроме того, у лишайников обнаружена способность восстанавливать физиологическую активность даже после замораживания до  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  [3]. В природе в засушливые периоды года содержание влаги в лишайниках может опускаться до 20%, при этом даже при такой влажности у лишайников отмечалось заметное дыхание и фотосинтез [3].

Устойчивость лишайников к неблагоприятным условиям окружающей среды обусловлена в том числе накоплением низкомолекулярных соединений, обладающих крио- и осмопротекторными свойствами. К криопротекторам относятся вещества, защищающие клетки живых организмов от повреждающего действия низких температур, препятствующие формированию внутриклеточного льда и обезвоживанию [4]. К осмопротекторам относят относительно химически инертные, полярные соединения, накапливающиеся в цитоплазме для защиты клетки от дегидратации и поддержания внутриклеточной активности биомолекул [5].

Ранее нами изучалась годовая динамика накопления усниновой кислоты в лишайниках Центральной Якутии, было показано, что температура являлась важнейшим фактором, влияющим на биосинтез данного вторичного метаболита [6].

Климат Центральной Якутии характеризуется резкой континентальностью, которая проявляется в длинной холодной малоснежной зиме (октябрь-апрель) и коротком жарком засушливом лете. Климат характеризуется высокими амплитудами годовых и суточных температур, особенно в летние месяцы. По среднегодовому количеству осадков территория Центральной Якутии сопоставима с засушливыми степными и полупустынными регионами мира [7].

Цель работы – изучить сезонные изменения содержания метаболитов лишайников *Cetraria laevigata* и *Flavocetraria cucullata*, произрастающих в условиях Центральной Якутии.

### Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования были выбраны эпигейные кустистые лишайники, относящиеся к семейству *Parmeliaceae* (*Cetraria laevigata* Rass. и *Flavocetraria cucullata* (Bellardi) Kärnefelt & Thell), широко распространенные в сосновых лесах Восточной Сибири. Ежемесячный отбор образцов каждого исследованного вида лишайников ( $n=5$ ) проводили в течение 2018–2019 гг. во второй декаде каждого месяца на участке площадью  $20\text{ м}^2$  в сосново-брусничном лесу на территории Центральной Якутии ( $62^{\circ}3'$  с.ш.  $129^{\circ}34'$  в.д.).

Мониторинг температуры воздуха на поверхности почвы в месте отбора проб лишайников проводили с помощью регистраторов температуры TP-2 «ООО Инженерные технологии» (Россия), позволяющих фиксировать температуру с интервалом измерения 4 ч.

После полевого отбора проб образцы лишайников незамедлительно подвергали вакуум-упаковке в фольгированные пакеты на приборе Henkelman Boxer 42 (Нидерланды), после чего хранили при температуре  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Перед анализом образцы извлекали из упаковок и переносили в сушильную комнату, где сушили в течение 24 ч при температуре  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  в темноте при относительной влажности воздуха 5–7%.

Для метаболомного анализа 10 мг воздушно-сухого лишайника экстрагировали 1 мл метанола. Полученный экстракт выпаривали при  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ , сухой остаток растворяли в 50 мкл пиридина. Для получения летучих триметилсиллил-производных (ТМС) проводили дериватизацию с использованием 50 мкл N,O-бис-(триметилсиллил)трифторацетамида (BSTFA), в течение 15 мин при  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Анализ проводили методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) на хроматографе «Маэстро» (Россия) с квадрупольным масс-спектрометром Agilent 5975C (США), колонка HP-5MS,  $30\text{ м} \times 0.25\text{ мм}$ . Для хроматографии использовали линейный градиент температуры от  $70$  до  $320\text{ }^{\circ}\text{C}$  со скоростью  $4\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$  при потоке газа (гелий)  $1\text{ мл}/\text{мин}$ . Сбор данных осуществляли с помощью программного обеспечения Agilent ChemStation. Обработку и интерпретацию масс-спектрометрической информации проводили с использованием программы AMDIS и стандартной библиотеки NIST2011. Количественную интерпретацию хроматограмм проводили методом внутренней стандартизации по углеводороду  $\text{C}_{23}$ .

Статистический анализ метаболомных профилей выполняли онлайн в программе MetaboAnalyst 4.0 (<https://www.metaboanalyst.ca/>). Для статистической обработки метаболомных профилей была создана матрица, в которой в качестве наблюдений были взяты месяцы отбора проб, а в качестве параметров – содержание низкомолекулярных метаболитов. Иерархическую кластеризацию выполняли методом Уорда. Расстояния между объектами на дендрограмме оценивали, используя коэффициент корреляции Спирмана. Значения бутстрэп-

поддержки были рассчитаны на 1000 бутстрэп повторностях в программе PAST v. 2.07. Поддержку фрагментов дендрограммы считали статистически значимой, если она превышала вероятность  $\geq 70\%$ .

В таблицах полученные результаты представлены в виде средней арифметической величины и ее стандартной ошибки ( $M \pm SEM$ ). Сравнение средних значений выборок проводили методом однофакторного дисперсного анализа (ANOVA). Значимость отличий между средними определяли, используя критерий Ньюмана-Кейлса для множественных сравнений при уровне  $p < 0.05$ . Для установления статистической взаимосвязи между параметрами использовали коэффициент корреляции Пирсона. Расчет проводился с помощью пакета AnalystSoft, StatPlus – программа статистического анализа, v.2007.

### Обсуждение результатов

Мониторинг температуры на поверхности почвы в местах сбора лишайников показал, что среднемесячные положительные температуры наблюдались с мая по октябрь, а отрицательные – с ноября по апрель (рис. 1). Минимальная среднемесячная температура наблюдалась в феврале и составляла  $-25.5^\circ\text{C}$ , а максимальная температура – в июле  $19.5^\circ\text{C}$ .

В полученных метаболомных профилях *Cetraria laevigata* и *Flavocetraria cucullata* было выявлено 77 метаболитов, из которых 44 идентифицировано. Среди них 5 полиолов, 8 моно- и дисахаридов, 8 аминокислот, 8 карбоновых кислот, 5 жирных кислот.

При анализе иерархических кластеризаций, проводимых методом Уорда, показано, что метаболомные профили обоих видов лишайников группировались в 2 крупных кластера с хорошей статистической поддержкой, соответствующие температурным условиям, при которых проводился отбор проб (рис. 2). Показано, что к первой группе относились метаболомы лишайников *C. laevigata* и *F. cucullata*, собранных в период с июня по август, во вторую группу вошли метаболомы тех же лишайников, собранных в интервале с октября по апрель включительно. Кроме того, из двух больших кластеров выделялись небольшие группы с хорошими статистическими поддержками соответствующие маю и сентябрю, когда среднемесячные температуры находились в температурном интервале от  $+1$  до  $+10^\circ\text{C}$ .

Схожесть метаболомных профилей двух видов лишайников, собранных в течение календарной зимы, весны и поздней осени, с одной стороны, и в течение лета – с другой, может быть обусловлена особенностью климата Центральной Якутии, который характеризуется продолжительной климатической зимой (период, когда среднесуточные температуры находятся ниже  $0^\circ\text{C}$ ) длительностью с октября по апрель и коротким климатическим летом (период, когда среднесуточные температуры держатся выше  $+10^\circ\text{C}$ ) с июня по август [7]. В мае и сентябре, когда происходил температурный переход от климатической зимы к лету и наоборот, лишайники, по-видимому, находились в промежуточных состояниях между покоем и активным ростом, что отражалось на состоянии их метаболомов.

Интерпретацию полученных дендрограмм проводили с использованием метода ANOVA. Выявлено, что основными соединениями, вносящими наибольший вклад в кластеризацию метаболомов, являлись жирные кислоты, полиолы (арабитол, рибитол, маннитол, глицерин), гидроксипролин и сахароза.

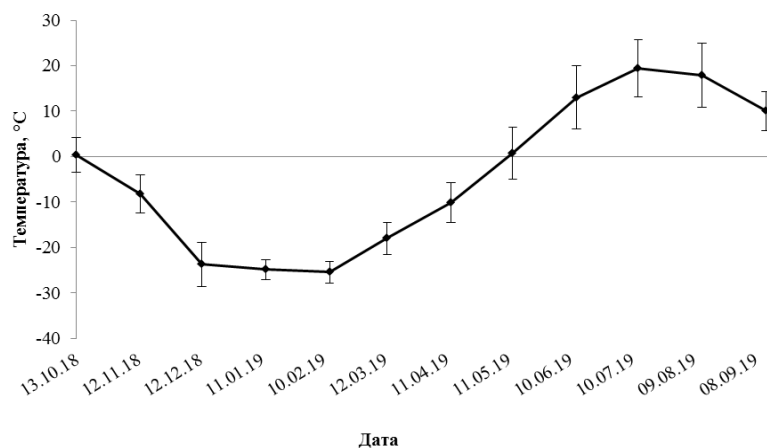


Рис. 1. Годовая температура на поверхности почвы в условиях Центральной Якутии (по данным исследования)

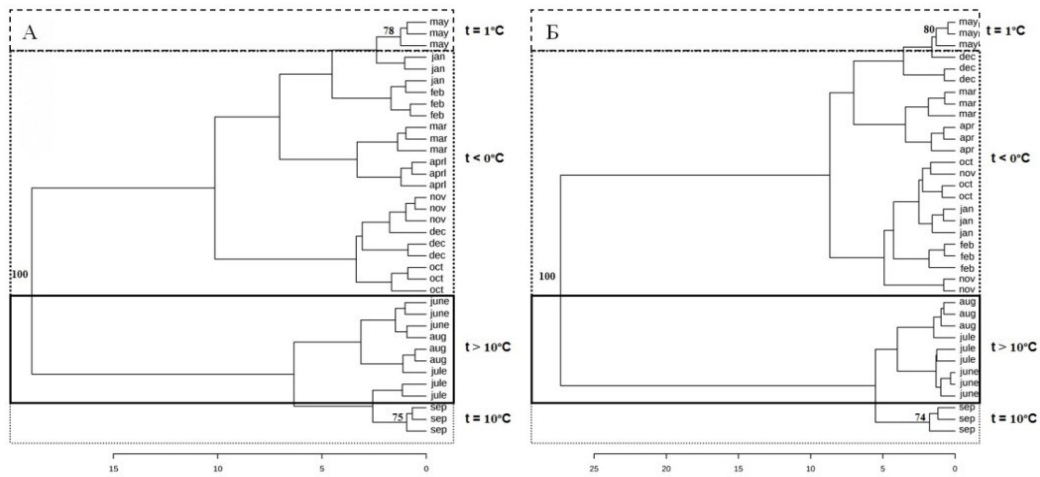


Рис. 2. Дендрограммы иерархической кластеризации метаболомов лишайников *Flavocetraria cucullata* (А) и *Cetraria laevigata* (Б) по методу Уорда. По оси ординат – месяцы отбора проб, по оси абсцисс – расстояние объединения объектов. Числа на ветвях отображают значения их бутстрэп-поддержки  $\geq 70\%$

Известно, что полиолы, сахароза и гидроксипролин в лишайниках могут проявлять осмопротекторные и криопротекторные свойства [8–10]. Накопление полиолов и сахарозы в изученных лишайниках было наибольшим в летний, наиболее засушливый период года, что обусловлено, с одной стороны, активизацией фотосинтетических процессов, с другой – потребностью лишайников в соединениях, способствующих эффективной адсорбции воды из окружающей среды при обезвоживании (табл. 1). Считается, что полиолы рибитол, арабитол и маннитол относятся к главным запасным соединениям лишайников, кроме того, рибитол также является основным продуктом фотосинтеза, передаваемым от симбиотической зеленой водоросли грибному компаньону [10]. Показана прямая корреляция между температурой и суммарным содержанием полиолов –  $r=0.79$ ;  $p<0.01$  и  $r=0.85$ ;  $p<0.01$  и сахарозы –  $r=0.77$ ;  $p<0.01$  и  $r=0.84$ ;  $p<0.01$  в лишайниках *C. laevigata* и *F. cucullata* соответственно, что указывает на важную роль данного фактора окружающей среды для биосинтеза углеводов. В течение климатической зимы суммарное содержание полиолов и сахарозы в изученных лишайниках сохранялось примерно на одном уровне (в диапазоне 70–100 мг/г у *F. cucullata* и 115–125 мг/г у *C. laevigata*), что может быть обусловлено защитными свойствами данных соединений при действии низких температур [8]. Таким образом, полиолы в лишайниках способны выполнять, с одной стороны, функции осмопротекторов в засушливый период года, а с другой – криопротекторов в течение климатической зимы. С октября по апрель наблюдался тренд на повышение содержания глицерина у обоих видов лишайников, содержание которого достигало максимума в марте и апреле. Нами выявлена обратная взаимосвязь между температурой и содержанием глицерина в лишайниках *C. laevigata* ( $r=-0.72$ ,  $p<0.01$ ) и *F. cucullata* ( $r=-0.89$ ,  $p<0.01$ ), что, по-видимому, связано с антифризными и криопротекторными свойствами данного соединения [4, 11]. Ранее в работе R. A. Armstrong и S. N. Smith [12] не было обнаружено значимых сезонных различий в содержании полиолов в лишайниках *Rhizocarpon geographicum* произрастающих на территории Уэльса (Великобритания), данный факт не согласуется с полученными нами данными, что может быть обусловлено как видовыми различиями лишайников, так и, прежде всего, значительным отличием климатических условий произрастания.

Наибольшее содержание гидроксипролина в изученных лишайниках наблюдалось с мая по сентябрь. Повышение концентрации гидроксипролина в весенний и летний период может быть связано с его осмопротекторными свойствами, так как известно, что в данный период лишайники наиболее подвержены обезвоживанию [1, 13]. Нами выявлена прямая взаимосвязь между температурой и содержанием гидроксипролина в лишайниках *C. laevigata* ( $r=0.91$ ,  $p<0.01$ ) и *F. cucullata* ( $r=0.92$ ,  $p<0.01$ ). При этом содержание гидроксипролина в талломах *F. cucullata* было в среднем в 2.5 раза выше, чем в *C. laevigata*.

Изучена динамика накопления свободных жирных кислот (ЖК) в талломах *F. cucullata* и *C. laevigata* (табл. 2). Показано, что содержание насыщенных пальмитиновой и стеариновой кислот в талломах снижалось в зимний период года. В то время как содержание ненасыщенных олеиновой и линолевой кислот в талломах исследуемых лишайников напротив увеличивалось с октября по март. Показана корреляция между среднемесячной температурой и суммарным содержанием насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в лишайниках

*C. laevigata* ( $r=0.92$ ,  $p<0.01$  и  $r=-0.76$ ,  $p<0.01$ ) и *F. cucullata* ( $r=0.88$ ,  $p<0.01$  и  $r=-0.84$ ,  $p<0.01$ ). Вероятно, повышение содержания ненасыщенных ЖК в период климатической зимы связано с уменьшением текучести клеточных мембран при действии низких температур, что приводило к активации трансляции ферментов десатураз, которые участвуют в процессе превращения насыщенных ЖК в ненасыщенные [14, 15]. Известно, что увеличение количества ненасыщенных ЖК приводит к восстановлению текучести мембран клеток [15].

Таблица 1. Годовая динамика накопления полиолов, сахарозы и гидроксипролина в талломах *Cetraria laevigata* и *Flavocetraria cucullata*

Месяц	Содержание, мг/г сухой массы*					
	сахароза	арабитол	рибитол	маннитол	глицерин	гидроксипролин
<i>Cetraria laevigata</i>						
Октябрь	9.9±1.1 <sup>a</sup>	70.2±5.5 <sup>a</sup>	15.4±0.9 <sup>a</sup>	17.3±1.9 <sup>a</sup>	2.2±0.2 <sup>a</sup>	0.6±0.1 <sup>a</sup>
Ноябрь	10.7±0.8 <sup>a</sup>	77.9±6.3 <sup>a</sup>	15.7±1.1 <sup>a</sup>	17.9±0.5 <sup>a</sup>	2.3±0.1 <sup>a</sup>	0.3±0.1 <sup>b</sup>
Декабрь	10.8±1.0 <sup>a</sup>	75.6±1.6 <sup>a</sup>	15.3±0.7 <sup>a</sup>	17.3±1.6 <sup>a</sup>	2.5±0.1 <sup>a</sup>	0.2±0.0 <sup>b</sup>
Январь	9.3±0.6 <sup>a</sup>	77.4±2.2 <sup>a</sup>	14.2±0.8 <sup>a</sup>	17.2±0.5 <sup>a</sup>	2.9±0.2 <sup>b</sup>	0.2±0.0 <sup>b</sup>
Февраль	7.5±0.6 <sup>b</sup>	80.9±4.3 <sup>a</sup>	15.3±1.2 <sup>a</sup>	16.8±0.9 <sup>a</sup>	3.1±0.2 <sup>b,c</sup>	0.3±0.1 <sup>b</sup>
Март	6.6±0.2 <sup>b,c</sup>	81.0±2.8 <sup>a</sup>	16.4±1.0 <sup>a</sup>	17.8±0.4 <sup>a</sup>	3.6±0.2 <sup>c</sup>	0.4±0.1 <sup>a,b</sup>
Апрель	4.9±0.7 <sup>c</sup>	77.6±5.9 <sup>a</sup>	18.2±1.4 <sup>b</sup>	24.4±1.3 <sup>a</sup>	3.9±0.4 <sup>c</sup>	0.5±0.1 <sup>a</sup>
Май	11.6±0.5 <sup>a</sup>	76.6±5.4 <sup>a</sup>	18.0±1.1 <sup>b</sup>	36.2±1.6 <sup>b</sup>	2.5±0.3 <sup>a</sup>	0.5±0.1 <sup>a</sup>
Июнь	11.9±0.2 <sup>a</sup>	76.1±3.6 <sup>a</sup>	19.0±0.6 <sup>b,c</sup>	35.3±1.5 <sup>b</sup>	1.8±0.1 <sup>a</sup>	0.6±0.1 <sup>a</sup>
Июль	23.2±0.5 <sup>d</sup>	90.2±3.9 <sup>b</sup>	22.6±1.9 <sup>c</sup>	61.2±2.0 <sup>c</sup>	1.7±0.1 <sup>a</sup>	0.7±0.1 <sup>a,c</sup>
Август	18.3±0.6 <sup>d</sup>	87.6±2.8 <sup>b</sup>	27.8±2.1 <sup>c</sup>	41.4±1.3 <sup>b</sup>	2.1±0.1 <sup>a</sup>	0.9±0.1 <sup>c</sup>
Сентябрь	14.0±0.6 <sup>c</sup>	78.0±2.7 <sup>a</sup>	21.8±1.4 <sup>b,c</sup>	33.0±1.3 <sup>b</sup>	2.0±0.1 <sup>a</sup>	0.7±0.1 <sup>a,c</sup>
<i>Flavocetraria cucullata</i>						
Октябрь	10.4±0.7 <sup>a</sup>	52.7±1.8 <sup>a</sup>	10.5±0.4 <sup>a</sup>	21.1±0.9 <sup>a</sup>	1.7±0.1 <sup>a</sup>	1.1±0.1 <sup>a</sup>
Ноябрь	10.8±0.4 <sup>a</sup>	57.6±4.0 <sup>a</sup>	10.5±0.7 <sup>a</sup>	22.2±0.6 <sup>a</sup>	2.4±0.2 <sup>b</sup>	0.9±0.1 <sup>a</sup>
Декабрь	9.0±0.4 <sup>a</sup>	57.9±3.9 <sup>a</sup>	9.0±1.0 <sup>a</sup>	21.6±1.4 <sup>a</sup>	2.4±0.2 <sup>b</sup>	0.8±0.1 <sup>a,b</sup>
Январь	4.8±0.4 <sup>b</sup>	44.0±2.7 <sup>b</sup>	5.9±0.7 <sup>b</sup>	16.7±0.3 <sup>b</sup>	2.8±0.2 <sup>c</sup>	0.6±0.1 <sup>b</sup>
Февраль	4.2±0.5 <sup>b</sup>	40.0±1.5 <sup>b</sup>	5.8±0.4 <sup>b</sup>	15.9±0.4 <sup>b</sup>	3.1±0.3 <sup>c</sup>	0.4±0.1 <sup>b</sup>
Март	4.1±0.5 <sup>b</sup>	39.7±1.9 <sup>b</sup>	5.8±0.5 <sup>b</sup>	16.0±0.3 <sup>b</sup>	3.7±0.2 <sup>d</sup>	0.9±0.1 <sup>a</sup>
Апрель	4.4±0.5 <sup>b</sup>	38.6±1.0 <sup>b</sup>	6.9±0.3 <sup>b</sup>	17.7±0.6 <sup>b</sup>	3.0±0.2 <sup>c,d</sup>	1.0±0.1 <sup>a</sup>
Май	7.4±0.6 <sup>c</sup>	56.2±0.5 <sup>a</sup>	10.0±0.2 <sup>a</sup>	29.8±2.4 <sup>c</sup>	1.4±0.1 <sup>a</sup>	1.5±0.1 <sup>c</sup>
Июнь	13.8±0.5 <sup>a,d</sup>	73.3±3.1 <sup>c</sup>	13.3±0.9 <sup>c</sup>	33.7±3.1 <sup>c,d</sup>	0.9±0.1 <sup>d</sup>	1.8±0.1 <sup>c,d</sup>
Июль	16.4±0.6 <sup>d</sup>	77.1±6.7 <sup>c</sup>	12.9±1.0 <sup>c</sup>	38.7±2.2 <sup>d</sup>	0.9±0.1 <sup>d</sup>	2.2±0.1 <sup>d</sup>
Август	16.5±0.8 <sup>d</sup>	74.8±1.9 <sup>c</sup>	13.4±0.4 <sup>c</sup>	33.8±0.7 <sup>c,d</sup>	1.0±0.1 <sup>d</sup>	2.3±0.1 <sup>d</sup>
Сентябрь	9.4±0.6 <sup>a</sup>	60.1±4.1 <sup>a</sup>	10.2±0.7 <sup>a</sup>	17.9±1.4 <sup>b</sup>	1.2±0.1 <sup>a</sup>	1.2±0.1 <sup>a,c</sup>

Примечания. Средние значения с одинаковыми буквенными надстрочными индексами статистически неразличимы при  $p<0.05$ . \* – за 1 мг принят 1 мг TMS-производных идентифицированных соединений.

Таблица 2. Годовая динамика накопления жирных кислот в талломах *Cetraria laevigata* и *Flavocetraria cucullata*

Месяц	Содержание жирных кислот, мкг/г сухой массы*			
	Пальмитиновая	Стеариновая	Олеиновая	Линолевая
1	2	3	4	5
<i>Cetraria laevigata</i>				
Октябрь	318±24 <sup>a,b</sup>	138±11 <sup>a,b</sup>	225±14 <sup>a</sup>	135±9 <sup>a</sup>
Ноябрь	309±30 <sup>a,b</sup>	135±14 <sup>a,b</sup>	232±8 <sup>a</sup>	161±4 <sup>b</sup>
Декабрь	272±17 <sup>a</sup>	126±11 <sup>a</sup>	219±13 <sup>a</sup>	165±10 <sup>b,c</sup>
Январь	284±18 <sup>a</sup>	128±7 <sup>a</sup>	232±12 <sup>a</sup>	151±5 <sup>a,b</sup>
Февраль	280±19 <sup>a</sup>	128±13 <sup>a</sup>	277±16 <sup>b</sup>	173±4 <sup>c</sup>
Март	298±18 <sup>a,b</sup>	133±15 <sup>a</sup>	304±15 <sup>b</sup>	184±7 <sup>c</sup>
Апрель	290±17 <sup>a,b</sup>	139±8 <sup>a,b</sup>	325±19 <sup>b,c</sup>	146±8 <sup>a,b</sup>
Май	287±20 <sup>a,b</sup>	143±9 <sup>a,b</sup>	268±16 <sup>b</sup>	106±10 <sup>d</sup>
Июнь	337±16 <sup>b</sup>	157±8 <sup>b</sup>	221±13 <sup>a</sup>	110±4 <sup>d</sup>
Июль	333±17 <sup>b</sup>	160±9 <sup>b</sup>	184±12 <sup>a</sup>	114±8 <sup>d</sup>
Август	351±15 <sup>b</sup>	160±8 <sup>b</sup>	146±6 <sup>d</sup>	92±4 <sup>d</sup>
Июль	402±15 <sup>-</sup>	161±6 <sup>c</sup>	121±13 <sup>d</sup>	96±9 <sup>d</sup>
Сентябрь	318±16 <sup>a,b</sup>	133±10 <sup>a,b</sup>	224±18 <sup>a</sup>	145±10 <sup>a,b</sup>
Октябрь	319±23 <sup>a</sup>	124±4 <sup>a</sup>	168±10 <sup>a</sup>	131±6 <sup>a</sup>
Ноябрь	331±12 <sup>a</sup>	114±8 <sup>a</sup>	206±7 <sup>b</sup>	157±14 <sup>b</sup>

Окончание таблицы 2

1	2	3	4	5
<i>Flavocetraria cucullata</i>				
Декабрь	252±23 <sup>b</sup>	103±18 <sup>a,b</sup>	212±13 <sup>b</sup>	156±14 <sup>b</sup>
Январь	218±13 <sup>b</sup>	88±6 <sup>b</sup>	188±12 <sup>a,b</sup>	154±13 <sup>b</sup>
Февраль	221±7 <sup>b</sup>	90±3 <sup>b</sup>	203±15 <sup>b</sup>	146±12 <sup>a,b</sup>
Март	235±13 <sup>b</sup>	103±11 <sup>a,b</sup>	261±19 <sup>c</sup>	170±16 <sup>b</sup>
Апрель	241±5 <sup>b</sup>	108±4 <sup>a</sup>	204±18 <sup>b</sup>	113±7 <sup>c</sup>
Май	411±25 <sup>c</sup>	158±6 <sup>c</sup>	197±17 <sup>a,b</sup>	98±13 <sup>c,d</sup>
Июнь	405±15 <sup>c</sup>	162±12 <sup>c</sup>	156±13 <sup>a</sup>	89±9 <sup>d</sup>
Август	375±12 <sup>c</sup>	137±2 <sup>d</sup>	132±5 <sup>d</sup>	118±12 <sup>a,d</sup>
Сентябрь	320±16 <sup>a</sup>	117±6 <sup>a</sup>	173±7 <sup>a</sup>	134±8 <sup>a</sup>

Примечания. Средние значения с одинаковыми буквенными надстрочными индексами статистически неразличимы при  $p < 0.05$ . \* – за 1 мг принят 1 мкг TMS-производных идентифицированных соединений.

### Выводы

Таким образом, в результате проведенного метаболомного анализа лишайников *Flavocetraria cucullata* и *Cetraria laevigata* нами выявлены сезонные изменения содержания гидроксипролина, сахарозы, полиолов и жирных кислот. Выявлено, что в летний период повышалась интенсивность накопления полиолов, гидроксипролина и сахарозы, что связано, с одной стороны, с активизацией фотосинтетических процессов, с другой – приводит к повышению устойчивости к обезвоживанию.

### Список литературы

- Zachariah S.A., Varghese S.K. The Lichen Symbiosis: A Review // International Journal of Scientific Research and Reviews. 2018. Vol. 7(3). Pp. 1160–1169.
- Lange O.L., Green T.G.A. Lichens show that fungi can acclimate their respiration to seasonal changes in temperature // Oecologia. 2005. Vol. 142. Pp. 11–19. DOI: 10.1007/s00442-004-1697-x.
- Nash T.H. Lichen Biology. New-York, 2008. 486 p.
- Baruch E., Belostotskii A.M., Mastai Y. Relationship between the antifreeze activities and the chemical structures of polyols // Journal of Molecular Structure. 2008. Vol. 874. Pp. 170–177. DOI: 10.1016/j.molstruc.2007.03.054.
- Селиванова Е.А. Механизмы выживания микроорганизмов в гиперосмотических условиях // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2012. №3. С. 1–11.
- Прокопьев И.А., Шейн А.А., Филиппова Г.В., Филиппов Э.В., Шашурин М.М., Гладкина Н.П. Годовая динамика содержания усниновой кислоты в талломах лишайников родов *Cladonia* и *Flavocetraria*, произрастающих в Центральной Якутии // Химия растительного сырья. 2015. №4. С. 45–49.
- Варламов С.П., Скачков Ю.Б., Скрябин П.Н. Результаты 35-летних мониторинговых исследований криолитозоны на стационаре «Чабыда» (Центральная Якутия) // Наука и образование. 2017. №2. С. 34–40.
- Порядина Л.Н., Прокопьев И.А., Конорева Л.А., Чесноков С.В., Слепцов И.В., Филиппова Г.В., Шашурин М.М. Адаптационные биохимические механизмы, обеспечивающие устойчивость лишайников к экстремальным условиям среды обитания (обзор) // Природные ресурсы Арктики и Субарктики. 2018. №4(26). С. 109–117.
- Шапиро И.А. Эколого-физиологические особенности газообмена у лишайников // Успехи современной биологии. 2009. Т. 129. №4. С. 392–398.
- Hájek J., Vácz P., Barták M., Smejkal L., Lipavská H. Cryoprotective role of ribitol in *Xanthoparmelia somloensis* // Biologia Plantarum. 2009. Vol. 53. Pp. 677–684. DOI: 10.1007/s10535-009-0122-z.
- Hasan M., Fayter A.E.R., Gibson M.I. Ice Recrystallization Inhibiting Polymers Enable Glycerol-Free Cryopreservation of Microorganisms // Biomacromolecules. 2018. Vol. 19(8). Pp. 3371–3376. DOI: 10.1021/acs.biomac.8b00660.
- Armstrong R.A., Smith S.N. Carbohydrates in the hypothallus and areolae of the crustose lichen *Rhizocarpon geographicum* (L.) DC. // Symbiosis. 2009. Vol. 49. Pp. 95–100. DOI: 10.1007/s13199-009-0016-z.
- Inoue T., Kudoh S., Uchida M., Tanabe Y., Inoue M., Kanda H. Effects of substrate differences on water availability for Arctic lichens during the snow-free summers in the High Arctic glacier foreland // Polar Science. 2014. Vol. 8, N4. Pp. 397–412. DOI: https://doi.org/10.1016/j.polar.2014.09.003.
- Tan L., Zhuo R., Li S., Ma F., Zhang X. Differential expression of desaturase genes and changes in fatty acid composition of *Mortierella* sp. AGED in response to environmental factors // J. Sci. Food Agric. 2017. Vol. 97(6). Pp. 1876–1884. DOI: 10.1002/jsfa.7990.
- Niu Y., Xiang Y. An Overview of Biomembrane Functions in Plant Responses to High-Temperature Stress // Front. Plant Sci. 2018. Vol. 9. Article 915. DOI: 10.3389/fpls.2018.00915.

Поступила в редакцию 6 марта 2020 г.

После переработки 7 мая 2020 г.

Принята к публикации 17 сентября 2020 г.

Для цитирования: Прокопьев И.А., Слепцов И.В., Порядина Л.Н., Рожина С.М. Сезонные изменения содержания метаболитов в лишайниках *Cetraria laevigata* и *Flavocetraria cucullata* // Химия растительного сырья. 2020. №4. С. 211–217. DOI: 10.14258/jcrpm.2020047443.

Prokopyev I.A.<sup>1,2\*</sup>, Sleptsov I.V.<sup>1</sup>, Poryadina L.N.<sup>1</sup>, Rozhina S.M.<sup>1</sup> SEASONAL VARIATIONS IN THE CONTENT OF METABOLITES IN LICENSSES OF *CETRARIA LAEVIGATA* AND *FLAVOCETRARIA CUCULLATA*

<sup>1</sup> Institute for Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, pr. Lenina, 41, Yakutsk, 677980 (Russia),

e-mail: ilya.a.prokopyev@gmail.com

<sup>2</sup> Komarov Botanical Institute RAS, ul. Professora Popova, 2, St. Petersburg, 197376 (Russia)

Metabolic profiles of lichens *Flavocetraria cucullata* and *Cetraria laevigata* were obtained by gas chromatography-mass spectrometry, samples of which were taken monthly throughout the year in a pine-lingonberry forest in Central Yakutia. In the obtained metabolic profiles of the studied lichens, 77 metabolites were identified, of which 44 were identified. Among them, 5 polyols, 8 mono- and disaccharides, 8 amino acids, 8 carboxylic acids, 5 fatty acids. On the obtained statistical models, it was shown that the metabolomes of the studied lichens collected from June to August (climatic summer) differed from the samples taken from October to April (climatic winter). It was revealed that in the summer period the accumulation rate of polyols, hydroxyproline and sucrose increased, which is associated, on the one hand, with the activation of photosynthetic processes, and, on the other hand, with resistance to dehydration. While during the climatic winter, an increased accumulation of unsaturated fatty acids and glycerol was observed, which is probably due to the protective functions of these compounds when exposed to low temperatures.

**Keywords:** gas chromatography-mass spectrometry, climate, metabolomics, cryoprotectors, osmoprotectors.

### References

1. Zachariah S.A., Varghese S.K. *International Journal of Scientific Research and Reviews*, 2018, vol. 7(3), pp. 1160–1169.
2. Lange O.L., Green T.G.A. *Oecologia*, 2005, vol. 142, pp. 11–19. DOI: 10.1007/s00442-004-1697-x.
3. Nash T.H. *Lichen Biology*, New-York, 2008, 486 p.
4. Baruch E., Belostotskii A.M., Mastai Y. *Journal of Molecular Structure*, 2008, vol. 874, pp. 170–177. DOI: 10.1016/j.molstruc.2007.03.054.
5. Selivanova Ye.A. *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN*, 2012, no. 3, pp. 1–11. (in Russ.).
6. Prokopyev I.A., Shein A.A., Filippova G.V., Filippov E.V., Shashurin M.M., Gladkina N.P. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2015, no. 4, pp. 45–49. (in Russ.).
7. Varlamov S.P., Skachkov YU.B., Skryabin P.N. *Nauka i obrazovaniye*, 2017, no. 2, pp. 34–40. (in Russ.).
8. Poryadina L.N., Prokopyev I.A., Konoreva L.A., Chesnokov S.V., Sleptsov I.V., Filippova G.V., Shashurin M.M. *Prirodnyye resursy Arktiki i Subarktiki*, 2018, no. 4(26), pp. 109–117. (in Russ.).
9. Shapiro I.A. *Uspekhi sovremennoy biologii*, 2009, vol. 129, no. 4, pp. 392–398. (in Russ.).
10. Hájek J., Váczi P., Barták M., Smejkal L., Lipavská H. *Biologia Plantarum*, 2009, vol. 53, pp. 677–684. DOI: 10.1007/s10535-009-0122-z.
11. Hasan M., Fayer A.E.R., Gibson M.I. *Biomacromolecules*, 2018, vol. 19(8), pp. 3371–3376. DOI: 10.1021/acs-biomac.8b00660.
12. Armstrong R.A., Smith S.N. *Symbiosis*, 2009, vol. 49, pp. 95–100. DOI: 10.1007/s13199-009-0016-z.
13. Inoue T., Kudoh S., Uchida M., Tanabe Y., Inoue M., Kanda H. *Polar Science*, 2014, vol. 8, no. 4, pp. 397–412. DOI: 10.1016/j.polar.2014.09.003.
14. Tan L., Zhuo R., Li S., Ma F., Zhang X. *J. Sci. Food Agric.*, 2017, vol. 97(6), pp. 1876–1884. DOI: 10.1002/jsfa.7990.
15. Niu Y., Xiang Y. *Front. Plant Sci.* 2018, vol. 9, article 915. DOI: 10.3389/fpls.2018.00915.

Received March 6, 2020

Revised May 7, 2020

Accepted September 17, 2020

**For citing:** Prokopyev I.A., Sleptsov I.V., Poryadina L.N., Rozhina S.M. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 4, pp. 211–217. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020047443.

\* Corresponding author.

