

УДК 577.121:582.29

ВЛИЯНИЯ ТЕМПЕРАТУРНЫХ УСЛОВИЙ НА НАКОПЛЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ И ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ЛИШАЙНИКАМИ *FLAVOCETRARIA CUCULLATA* И *CETRARIA LAEVIGATA*

© *И.А. Прокопьев**, *И.В. Слепцов*, *Л.Н. Порядина*

*Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, пр. Ленина, 41,
Якутск, 677980 (Россия), e-mail: ilya.a.prokopiev@gmail.com*

Проведено исследование влияния температуры в камеральных условиях на накопление первичных и вторичных метаболитов лишайниками *Flavocetraria cucullata* (Bellardi) Kärnefelt & Thell и *Cetraria laevigata* Rass. Образцы лишайников извлекали из-под снега (-20 °С) вместе с почвенным субстратом и переносили в климатическую камеру. После чего последовательно повышали температуру в климатической камере до +10 и +20 °С. Экспозиция лишайников проводилась в течение 30 дней для каждого температурного режима. Анализ первичных метаболитов проводили методом газовой хромато-масс-спектрометрии. Показано, что у лишайников *F. cucullata* и *C. laevigata* при температурах +10 и +20 °С наблюдалось повышение содержания маннитола, рибитола, сахарозы и гидроксипролина, а также снижение содержания ненасыщенных жирных кислот по сравнению с исходными образцами. В то же время содержание глицерина и арабитола в талломах исходных лишайников (-20 °С) было выше, чем после экспозиции при +10 и +20 °С, что, по-видимому, связано с криопротекторными свойствами данных соединений. Содержание вторичных метаболитов в лишайниках определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Показано, что содержание усниновой, алло-протолихестериновой и протолихестериновой кислот в лишайниках *F. cucullata* после экспозиции в климатической камере возрастало, что может быть связано с общей активацией метаболических процессов при повышении температуры. В то же время содержание фумарпротоцетраровой кислоты в лишайниках *C. laevigata* снижалось при температурах +10 и +20 °С по сравнению с исходными образцами, что может быть связано с ее защитными свойствами при действии низкотемпературного стресса.

Ключевые слова: лишайники, температура, газовая хромато-масс-спектрометрия, высокоэффективная жидкостная хроматография, 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 являются симбиотическими организмами, включающими грибной (микобионт) и водо-

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

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

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

рослевый и/или цианобактериальный (фитобионт) компоненты. Лишайники отличаются большей устойчивостью к неблагоприятным условиям среды по сравнению с высшими растениями. Экстремальность условий обитания приводит к накоплению лишайниками различных биоактивных веществ, выполняющих адаптационные функции.

* Автор, с которым следует вести переписку.

Хорошо известна устойчивость лишайников к низким температурам, условиям обезвоживания и регидратации, благодаря наличию криопротекторов и осмопротекторов в их талломах [1, 2].

К криопротекторам относятся вещества, защищающие клетки живых организмов от повреждающего действия низких температур, препятствующие формированию внутриклеточного льда и обезвоживанию [3]. К осмопротекторам относят относительно химически инертные, полярные соединения, накапливающиеся в цитоплазме для защиты клетки от дегидратации и поддержания внутриклеточной активности биомолекул [4].

Ранее в условиях полевого эксперимента нами были выявлены сезонные изменения содержания первичных (гидроксипролина, сахарозы, полиолов и жирных кислот) и вторичных (усниновая, протолихестериновая, алло-протолихестериновая и фумарпротоцетраровая кислоты) метаболитов в лишайниках *Flavocetraria cucullata* и *Cetraria laevigata*, произрастающих на территории Центральной Якутии. Показано, что у обоих видов в летний период повышалась интенсивность накопления полиолов (кроме глицерина), гидроксипролина и сахарозы, что, вероятно, связано, с одной стороны, с активизацией фотосинтетических процессов, с другой – приводит к повышению устойчивости их к обезвоживанию [5].

Исследование сезонных изменений состава свободных жирных кислот лишайников *F. cucullata* и *C. laevigata* показало, 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 [6].

Исследование сезонного накопления вторичных метаболитов показало, что в талломах *F. cucullata* максимальные концентрации усниновой, алло-протолихестериновой и протолихестериновой кислот были в июне и июле, что может быть обусловлено активацией метаболических процессов при повышенных температурах природной среды. В то же время максимальное содержание фумарпротоцетраровой кислоты в талломах *C. laevigata* наблюдалось с декабря по март, а минимальное – с мая по июнь, что может указывать на ее защитную функцию при действии низкотемпературного стресса [6].

Цель работы – изучить влияния температуры на накопление первичных и вторичных метаболитов лишайниками *Flavocetraria cucullata* и *Cetraria laevigata*, отобранных на территории Центральной Якутии, в контролируемых условиях камерального эксперимента.

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования были выбраны кустистые лишайники, относящиеся к семейству пармелиевые: *Flavocetraria cucullata* (Bellardi) Kärnefelt & Thell и *Cetraria laevigata* Rass, которые достаточно широко распространены в бореальных лесах Восточной Сибири.

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. Образцы лишайников (n=5 для каждого вида) в зимний период года (февраль 2020 г.) извлекали из-под снега вместе с почвенным субстратом (температура на поверхности почвы -20 °С) и переносили в климатическую камеру KBWF 720 (Binder, Германия). Далее в течение недели проводили постепенный вывод лишайника из состояния покоя при температуре +4 °С. После чего последовательно повышали температуру в климатических камерах до +10 и +20 °С. Экспозиция лишайников проводилась в течение 30 дней для каждого температурного режима.

Для анализа брали 10 мг (точная навеска) воздушно-сухого лишайника и экстрагировали 1 мл метанола. Полученный экстракт выпаривали при 60 °С, сухой остаток растворяли в 50 мкл пиридина. Для получения летучих триметилсил-производных (ТМС) проводили дериватизацию с использованием 50 мкл N,O-бис-(триметилсил)трифторацетамида (BSTFA), в течение 15 мин при 100 °С. Анализ проводили методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) на хроматографе «Маэстро» (Россия) с квадрупольным масс-спектрометром Agilent 5975C (США), колонка HP-5MS, 30 м × 0.25 мм. Для хроматографии использовали линейный градиент температуры от 70 °С до 320 °С со скоростью 4 °С/мин при потоке газа (гелий) 1 мл/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 C23.

Анализ экстрактов лишайников методом ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) проводили на приборе Милихром А-02 фирмы «ЭкоНова» (Россия) с обращенно-фазной колонкой 2×75 мм

ProntoSIL-C18 AQ (120 Å, 5 мкм). В качестве подвижной фазы «А» использовали 0.1%-ный водный раствор уксусной кислоты, «В» – ацетонитрил, градиентный режим элюирования с возрастанием доли «В» от 10 до 50% в течение 5 мин и от 50 до 100% – в течение 20 мин при скорости потока 100 мкл/мин и температуре колонки 40°C. Детектирование осуществляли на длинах волн 210, 230, 240, 260 и 280 нм. Идентификацию проводили, сопоставляя времена удерживания и спектральные отношения пиков, на хроматограмме, с пиками стандартов лишайниковых веществ из коллекции Ботанического института им. В.Л. Комарова.

Все измерения были выполнены на свежих образцах в 5 биологических и 3 аналитических повторностях. Полученные результаты представлены в виде средней арифметической величины и ее стандартной ошибки ($M \pm SD$). Сравнение средних значений выборок проводили методом однофакторного дисперсного анализа (ANOVA). Значимость отличий между средними определяли, используя критерий Ньюмана-Кейлса для множественных сравнений при уровне $p < 0.05$. Расчет проводился с помощью пакета AnalystSoft, StatPlus – программа статистического анализа, v.2007.

Обсуждение результатов

Исследование образцов методом ГХ/МС показало, что после 30-дневной экспозиции лишайников *F. cucullata* и *C. laevigata* при температурах +10 и +20 °С наблюдалось повышение содержания маннитола, рибитола, сахарозы и гидроксипролина по сравнению с исходными образцами (табл. 1). В то же время содержание таких многоатомных спиртов, как глицерин и арабитол в талломах исходных лишайников (-20 °С) было выше, чем после экспозиции при +10 и +20 °С.

Известно, что полиолы, сахароза, гидроксипролин в грибах и лишайниках могут проявлять осмопротекторные и криопротекторные свойства [1, 7]. Вероятно, накопление полиолов и сахарозы в изученных лишайниках при их экспозиции в климатических камерах может быть связано с потребностью лишайников в соединениях, способствующих эффективной адсорбции воды из окружающей среды. Кроме того, полиолы рибитол и маннитол относятся к главным запасным соединениям лишайников, накопление которых может быть обусловлено активизацией фотосинтетических процессов при действии положительных температур и освещения. В то же время в исходных образцах (-20 °С) выявлено повышенное содержание глицерина и арабитола, что, по-видимому, связано с криопротекторными свойствами данных соединений [8, 9]. Следует отметить, что при исследовании в полевых условиях при действии низких температур в талломах наблюдалось увеличение содержания только глицерина, в то время как содержание арабитола было максимальным в летний период [5]. Данное расхождение может объясняться тем, что климатические камеры воспроизводят не весь комплекс воздействий характерный для окружающей среды, в связи с чем результаты полевых и камеральных экспериментов могут отличаться.

Считается, что липиды клеточных мембран играют ключевую роль в процессах адаптации и формировании устойчивости организмов к неблагоприятным факторам внешней среды, прежде всего, к гипотермии. Известно, что именно ненасыщенные ЖК в структуре мембран определяют ее текучесть при адаптации к низкотемпературному стрессу [10, 11]. Одним из механизмов, обеспечивающих быстрое накопление ненасыщенных ЖК, является активация ферментов десатураз, которые участвуют в процессе превращения насыщенных ЖК в ненасыщенные [12].

Таблица 1. Влияние температуры на накопление полиолов, сахарозы и гидроксипролина в талломах *Cetraria laevigata* и *Flavocetraria cucullata*

Температура	Содержание, мг/г сухой массы*					
	сахароза	арабитол	рибитол	маннитол	глицерин	гидроксипролин
<i>Cetraria laevigata</i>						
Исх. (-20 °С)	4.2±0.2 ^a	84.1±4.0 ^a	11.4±0.4 ^a	23.5±1.1 ^a	3.5±0.3 ^a	0.2±0.0 ^a
+10 °С	4.5±0.2 ^a	69.6±2.4 ^b	12.0±0.1 ^b	31.9±2.0 ^b	2.4±0.3 ^b	0.4±0.1 ^b
+20 °С	5.5±1.0 ^b	61.9±2.0 ^c	14.8±0.8 ^c	42.0±1.4 ^c	2.6±0.4 ^b	0.7±0.1 ^c
<i>Flavocetraria cucullata</i>						
Исх. (-20 °С)	2.6±0.1 ^a	73.4±2.1 ^a	11.7±0.1 ^a	20.9±0.7 ^a	3.3±0.2 ^a	0.7±0.1 ^a
+10 °С	3.2±0.3 ^b	59.7±1.5 ^b	12.0±0.1 ^b	22.1±0.7 ^b	1.8±0.1 ^b	0.9±0.1 ^b
+20 °С	3.3±0.3 ^b	49.8±3.2 ^c	12.6±0.2 ^b	26.1±1.0 ^c	1.8±0.3 ^b	1.2±0.2 ^c

Примечание. Значения представлены в виде средних \pm стандартное отклонение. Средние значения с одинаковыми буквенными надстрочными индексами статистически неразличимы при $p < 0.05$. * – За 1 мг принят 1 мг TMS-производных идентифицированных соединений.

Изучена зависимость накопления свободных жирных кислот (ЖК) в талломах *F. cucullata* и *C. laevigata* от температуры (табл. 2). Показано, что содержание насыщенных пальмитиновой и стеариновой кислот в талломах сохранялось на одном уровне и не зависело от температурных условий. В то время как содержание ненасыщенных олеиновой и линолевой кислот в талломах исследуемых лишайников было наибольшим в исходных образцах лишайников, собранных из-под снега.

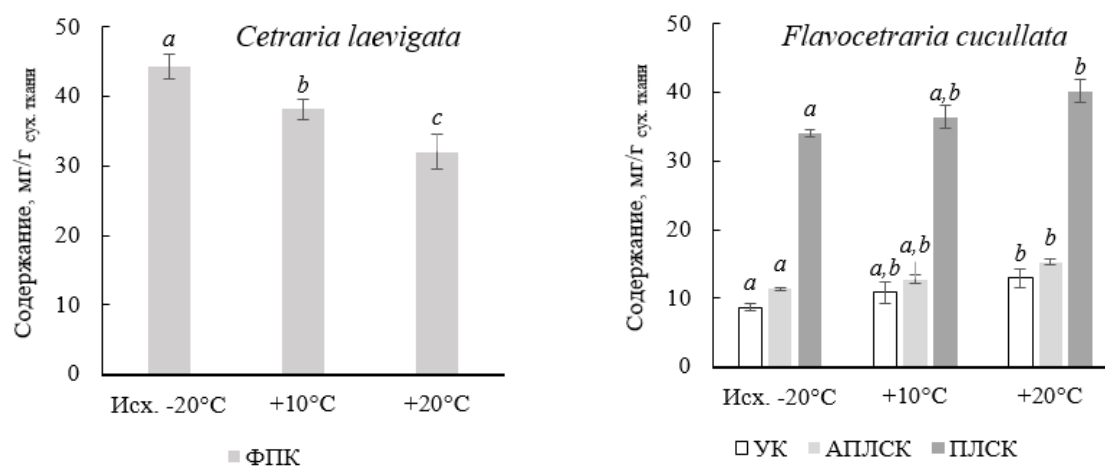
Определение влияния температурных условий на накопление вторичных метаболитов лишайников проводили методом ВЭЖХ. Выявлено, что основным метаболитом лишайника *C. laevigata* являлась фумарпротоцетраровая кислота. Показано, что ее содержание в лишайниках *C. laevigata* снижалось в 1.2 и 1.4 раза при температурах +10 и +20 °С соответственно, по сравнению с исходными образцами (рис.).

Известно, что фумарпротоцетраровая кислота в лишайниках преимущественно накапливается в клеточной стенке гиф внутренней части таллома и образует там гидрофобную поверхность, которая препятствует проникновению воды в клетки лишайника. Предположено, что изменение содержания фумарпротоцетраровой кислоты может быть связано с ее защитными свойствами при действии низкотемпературного стресса. Так, ее накопление в клеточных стенках гиф может препятствовать нуклеации льда и/или способствовать механическому укреплению клеточных стенок, тем самым защищая клетки микобионта в случае образования льда в межклеточных пространствах [13, 14]. Кроме того, известно, что фумарпротоцетраровая кислота, обладающая выраженными антиоксидантными свойствами (по ряду параметров сопоставимыми с дигидрокверцетином), может защищать клетки от последствий окислительного стресса, развивающегося в условиях гипотермии [15, 16]. Ранее на защитную роль фенольных антиоксидантов при низкотемпературном стрессе у высших растений указывалось в работах [17, 18].

Таблица 2. Влияние температуры на накопление жирных кислот в талломах *Cetraria laevigata* и *Flavocetraria cucullata*

Температура	Содержание жирных кислот, мкг/г сухой массы*			
	Пальмитиновая	Стеариновая	Олеиновая	Линолевая
<i>Cetraria laevigata</i>				
Исх. (-20 °С)	307±25 ^a	139±7 ^a	226±45 ^a	174±20 ^a
+10 °С	266±20 ^a	137±20 ^a	151±21 ^b	122±6 ^b
+20 °С	286±20 ^a	124±8 ^a	151±26 ^b	127±12 ^b
<i>Flavocetraria cucullata</i>				
Исх. (-20 °С)	150±19 ^a	71±14 ^a	183±28 ^a	193±25 ^a
+10 °С	138±14 ^a	54±5 ^a	100±8 ^b	146±6 ^b
+20 °С	148±24 ^a	51±9 ^a	97±7 ^b	130±13 ^b

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



Влияние температуры на накопление вторичных метаболитов лишайниками *Cetraria laevigata* и *Flavocetraria cucullata*. ФПК – фумарпротоцетраровая кислота, УК – усниновая кислота, АПЛСК – алло-протолихестериновая кислота, ПЛСК – протолихестериновая кислота. Средние значения с одинаковыми буквенными индексами статистически неразличимы при $p < 0.05$

В то же время содержание усниновой, алло-протолихестериновой и протолихестериновой кислот в лишайниках *F. cucullata* после экспозиции в климатической камере, напротив, возрастало, что может быть связано с общей активацией метаболических процессов при повышении температуры и в камеральных условиях (рис.). Возможно, что одной из причин пониженного содержания лишайниковых веществ *F. cucullata* в исходных образцах (-20 °C) может являться их относительно низкая антиоксидантная активность, что делает нецелесообразным их накопление в условиях пониженных температур и действия связанного с ними окислительного стресса [19, 20].

Выводы

Таким образом, результаты проведенного исследования в камеральных условиях согласуются с ранее полученными нами данными по сезонной динамике вторичных метаболитов в талломах *F. cucullata* и *C. laevigata*, подтверждая вывод о защитной функции глицерина и фумарпроцеттаровой кислоты при действии низких температур. Кроме того, выявлена возможная криопротекторная роль арабитола, содержание которого было максимальным в исходных образцах лишайников.

Список литературы

1. 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. DOI: 10.31242/2618-9712-2018-26-4-109-117.
2. Harańczyk H., Casanova-Katny A., Olech M., Strzałka K. Dehydration and Freezing Resistance of Lichenized Fungi // Plant Adaptation Strategies in Changing Environment. Singapore, 2017. Pp. 77–102. DOI: 10.1007/978-981-10-6744-0_3.
3. Bhattacharya S. Cryoprotectants and Their Usage in Cryopreservation Process // Cryopreservation Biotechnology in Biomedical and Biological Sciences. IntechOpen, 2018. Pp. 8–19. DOI: 10.5772/intechopen.80477
4. Селиванова Е.А. Механизмы выживания микроорганизмов в гиперосмотических условиях // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2012. №3. С. 1–11.
5. 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/jcprm.2020047443.
6. Прокопьев И.А., Слепцов И.В., Порядина Л.Н., Рожина С.М. Годовая динамика вторичных метаболитов в талломах *Cetraria laevigata* и *Flavocetraria cucullata* в условиях центральной Якутии // Природные ресурсы Арктики и Субарктики. 2020. Т. 25. №1. С. 94–100.
7. Shen B., Hohmann S., Jensen R.G., Bohnert H.J. Roles of Sugar Alcohols in Osmotic Stress Adaptation. Replacement of Glycerol by Mannitol and Sorbitol in Yeast // Plant Physiol. 1999. Vol. 121(1). Pp. 45–52. DOI: 10.1104/pp.121.1.45.
8. 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.
9. Tibbett M., Sanders F.E., Cairney J.W.G. Low-temperature-induced changes in trehalose, mannitol and arabitol associated with enhanced tolerance to freezing in ectomycorrhizal basidiomycetes (*Hebeloma* spp.) // Mycorrhiza. 2002. Vol. 12. Pp. 249–255. DOI: 10.1007/s00572-002-0183-8.
10. Лось Д.А. Молекулярные механизмы холодоустойчивости растений // Вестник РАН. 2005. Т. 75. №4. С. 338–345.
11. Niu Y., Xiang Y. An Overview of Biomembrane Functions in Plant Responses to High-Temperature Stress // Front. Plant Sci. 2018. Vol. 9. 915. DOI: 10.3389/fpls.2018.00915.
12. 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. Pp. 1876–1884. DOI: 10.1002/jsfa.7990.
13. Chalker-Scott L. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses // Photochemistry and Photobiology. 1999. Vol. 70. N1. Pp. 1–9. DOI: 10.1111/j.1751-1097.1999.tb01944.x.
14. Hoshino T., Odaira M., Yoshida M., Tsuda S. Physiological and Biochemical Significance of Antifreeze Substances in Plants // Journal of Plant Research. 1999. Vol. 112. Pp. 255–261. DOI: 10.1007/PL00013875.
15. Prokopen I.A., Filippova G.V. Antioxidant activity of secondary metabolites from *Cladonia* lichens // Chemistry of Natural Compounds. 2019. Vol. 55(5). Pp. 945–947. DOI: 10.1007/s10600-019-02855-9.
16. Kosanić M., Ranković B., Stanojković T., Rančić A., Manojlović N. *Cladonia* lichens and their major metabolites as possible natural antioxidant, antimicrobial and anticancer agents // LWT Food Sci. Technol. 2014. Vol. 59. Pp. 518–525. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.04.047.
17. Wingsle G., Karpinski S., Hallgren J.-E. Low temperature, high light stress and antioxidant defence mechanisms in higher plants // Phytol. 1999. Vol. 4. Pp. 253–268.

18. Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds // Trends in Plant Science. 1997. Vol. 2. Pp. 152–159. DOI: 10.1016/S1360-1385(97)01018-2.
19. Brisdelli F., Perilli M., Sellitri D., Piovano M., Garbarino J.A., Nicoletti M., Bozzi A., Amicosante G., Celenza G. Cytotoxic Activity and Antioxidant Capacity of Purified Lichen Metabolites: An In Vitro Study // Phytotherapy Research. 2013. Vol. 27(3). Pp. 431–437. DOI: 10.1002/ptr.4739.
20. Sisodia R., Geol M., Verma S., Rani A., Dureja P. Antibacterial and antioxidant activity of lichen species *Ramalina roesleri* // Nat. Prod. Res. 2013. Vol. 27. Pp. 2235–2239. DOI: 10.1080/14786419.2013.811410.

Поступила в редакцию 28 января 2021 г.

После переработки 2 марта 2021 г.

Принята к публикации 9 августа 2021 г.

Для цитирования: Прокопьев И.А., Слепцов И.В., Порядина Л.Н. Влияния температурных условий на накопление первичных и вторичных метаболитов лишайниками *Flavocetraria cucullata* и *Cetraria laevigata* // Химия растительного сырья. 2021. №3. С. 227–233. DOI: 10.14258/jcprm.2021039170.

*Prokopiev I.A.**, *Sleptsov I.V.*, *Poryadina L.N.* INFLUENCE OF TEMPERATURE CONDITIONS ON THE ACCUMULATION OF PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES BY LICHENS *FLAVOCETRARIA CUCULLATA* AND *CETRARIA LAEVIGATA*

Institute for Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, pr. Lenina, 41, Yakutsk, 677980 (Russia), e-mail: ilya.a.prokopiev@gmail.com

The study of the effect of temperature on the accumulation of primary and secondary metabolites by lichens *Flavocetraria cucullata* (Bellardi) Kärnefelt & Thell and *Cetraria laevigata* Rasm was carried out. Lichen samples were taken out from under the snow (-20 °C) together with the soil substrate and transferred to the climatic chamber. Then the temperature in the climatic chamber was sequentially increased to +10 and +20 °C. The lichen exposure was carried out for 30 days for each temperature regime. The analysis of primary metabolites was performed by gas chromatography-mass spectrometry. It was shown that in lichens *F. cucullata* and *C. laevigata* at temperatures of +10 and +20 °C, an increase in the content of mannitol, ribitol, sucrose, and hydroxyproline was observed, as well as a decrease in the content of unsaturated fatty acids as compared to the initial samples. At the same time, the content of glycerol and arabitol in the thalli of the initial lichens (-20 °C) was higher than after exposure at +10 and +20 °C, which, apparently, is associated with the cryoprotective properties of these compounds. The content of secondary metabolites in lichens was determined by high performance liquid chromatography. It was shown that the content of usnic, allo-protolichesterinic, and protolichesterinic acids in *F. cucullata* increased after exposure in a climatic chamber, which may be associated with a general activation of metabolic processes with an increase in temperature. At the same time, the content of fumarprotocetraric acid in *C. laevigata* lichens decreased at temperatures of +10 and +20 °C compared to the initial samples, which may be associated with its protective properties under the action of low-temperature stress.

Keywords: lichens, temperature, gas chromatography-mass spectrometry, high performance liquid chromatography, cryoprotectors, osmoprotectors.

* Corresponding author.

References

1. Poryadina L.N., Prokop'yev 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. DOI: 10.31242/2618-9712-2018-26-4-109-117. (in Russ.).
2. Harańczyk H., Casanova-Katny A., Olech M., Strzałka K. *Plant Adaptation Strategies in Changing Environment*. Singapore, 2017, pp. 77–102. DOI: 10.1007/978-981-10-6744-0_3.
3. Bhattacharya S. *Cryopreservation Biotechnology in Biomedical and Biological Sciences*. IntechOpen, 2018, pp. 8–19. DOI: 10.5772/intechopen.80477.
4. Selivanova Ye.A. *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN*, 2012, no. 3, pp. 1–11. (in Russ.).
5. Prokop'yev I.A., Sleptsov I.V., Poryadina L.N., Rozhina S.M. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2020, no. 4, pp. 211–217. DOI: 10.14258/jcprm.2020047443. (in Russ.).
6. Prokop'yev I.A., Sleptsov I.V., Poryadina L.N., Rozhina S.M. *Prirodnyye resursy Arktiki i Subarktiki*, 2020, vol. 25, no. 1, pp. 94–100. (in Russ.).
7. Shen B., Hohmann S., Jensen R.G., Bohnert H.J. *Plant Physiol.*, 1999, vol. 121(1), pp. 45–52. DOI: 10.1104/pp.121.1.45.
8. 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.
9. Tibbett M., Sanders F.E., Cairney J.W.G. *Mycorrhiza*, 2002, vol. 12, pp. 249–255. DOI: 10.1007/s00572-002-0183-8.
10. Los' D.A. *Vestnik RAN*, 2005, vol. 75, no. 4, pp. 338–345. (in Russ.).
11. Niu Y., Xiang Y. *Front. Plant Sci.*, 2018, vol. 9, 915. DOI: 10.3389/fpls.2018.00915.
12. Tan L., Zhuo R., Li S., Ma F., Zhang X. *J. Sci. Food Agric.*, 2017, vol. 97, pp. 1876–1884. DOI: 10.1002/jsfa.7990.
13. Chalker-Scott L. *Photochemistry and Photobiology*, 1999, vol. 70, no. 1, pp. 1–9. DOI: 10.1111/j.1751-1097.1999.tb01944.x.
14. Hoshino T., Odaira M., Yoshida M., Tsuda S. *Journal of Plant Research*, 1999, vol. 112, pp. 255–261. DOI: 10.1007/PL00013875.
15. Prokopen I.A., Filippova G.V. *Chemistry of Natural Compounds*, 2019, vol. 55(5), pp. 945–947. DOI: 10.1007/s10600-019-02855-9.
16. Kosanić M., Ranković B., Stanojković T., Rančić A., Manojlović N. *LWT Food Sci. Technol.*, 2014, vol. 59, pp. 518–525. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.04.047.
17. Wingsle G., Karpinski S., Hallgren J.-E. *Phyton*, 1999, vol. 4, pp. 253–268.
18. Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G. *Trends in Plant Science*, 1997, vol. 2, pp. 152–159. DOI: 10.1016/S1360-1385(97)01018-2.
19. Brisdelli F., Perilli M., Sellitri D., Piovano M., Garbarino J.A., Nicoletti M., Bozzi A., Amicosante G., Celenza G. *Phytotherapy Research*, 2013, vol. 27(3), pp. 431–437. DOI: 10.1002/ptr.4739.
20. Sisodia R., Geol M., Verma S., Rani A., Dureja P. *Nat. Prod. Res.*, 2013, vol. 27, pp. 2235–2239. DOI: 10.1080/14786419.2013.811410.

Received January 28, 2021

Revised March 2, 2021

Accepted August 9, 2021

For citing: Prokopiev I.A., Sleptsov I.V., Poryadina L.N. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 3, pp. 227–233. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2021039170.

