

МИКОЛОГИЯ И АЛЬГОЛОГИЯ

УДК 582.29; 582.24+582.28-11; 636.085.19:599.735.3

МИКОТОКСИНЫ, УСНИНОВАЯ КИСЛОТА
И ИХ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ В ЛИШАЙНИКАХ
РОДОВ *CETRARIA*, *FLAVOCETRARIA*, *CLADONIA*

Т.Ю. Толпышева

(кафедра микологии и альгологии; e-mail: tolpysheva@mail.ru)

В талломах лишайников 4 видов *Cladonia*, 2 видов *Cetraria*, 2 видов *Flavocetraria* методом иммуноферментного анализа исследовано содержание и характер распределения микотоксинов и усниновой кислоты. Установлены статистически значимые различия между содержанием некоторых микотоксинов в верхних и нижних участках талломов. Уровни микотоксинов в нижних, более старых частях талломов были выше, чем в верхних, более молодых. Сравнение образцов лишайников одного и того же вида, собранных в разные годы в одном месте, не выявило достоверно значимых различий в содержании микотоксинов как в верхних, так и нижних частях талломов. Статистически значимые различия по содержанию усниновой кислоты выявлены только у *C. stellaris*. В верхней части подцелиев концентрация усниновой кислоты выше, чем в нижней.

Ключевые слова: лишайники, микотоксины, усниновая кислота.

Начиная с XX в. в лишайниках стали находить низкомолекулярные биологически активные вещества, относящиеся к группе микотоксинов. Эмодин был выявлен в *Xanthoria aureola* [1, 2], *X. ulophyllodes* [2], *Asahinea chrysantha* [3], *Cetraria cucullata* [4]; диацетоксисцирпенол, цитринин, стеригмоцистин и микофеноловая кислота — в слоевищах лишайников разных таксономических групп; альтернариол — у изолированного микобионта лишайника *Graphis cognate* [5]. 15 микотоксинов обнаружено в смеси видов рода *Cladonia* секции *Cladina*, являющихся в зимний период основной пищей северного оленя [6, 7]. В настоящее время спектр видов лишайников и определенных в них микотоксинов расширился [8, 9].

Микотоксины вызывают заболевания животных. Лишайники составляют основу кормовой базы северного оленеводства. Питаясь, олени скрушивают верхушки эпигейных лишайников, поэтому выяснение характера распределения микотоксинов в талломах лишайников имеет существенное практическое значение.

Материалы и методы

Лишайники родов *Cetraria*, *Flavocetraria*, *Cladonia* секции *Cladina* и *C. sulphurina* (Michx.) Fr. были собраны в 2010 и 2012 гг.: *C. sulphurina* и *Flavocetraria nivalis* (L.) Kärnefelt & A. Thell — в Карелии, *F. cucullata* (Bellardi) Kärnefelt & A. Thell и *Cetraria laevigata* Rass. — на Таймыре, *C. islandica* Ach. — на Таймыре и в Тверской обл., *Cladonia rangiferina* (L.) F.H. Wigg и *C. arbuscula* (Wallr.) Flot. — в Тверской обл. и Карелии, *C. stellaris* (Opiz) Pouzar & Věz-

da — в Тверской и Мурманской (в том числе на территории Лапландского заповедника) областях, в Республике Коми (Печеро-Илычский заповедник). Лишайники собирали во второй половине лета. Подцелии кладоний и талломы видов сем. Parmeliaceae, используемые в опытах, делили на 2 неравные части: верхняя часть представляла собой 2/3 высоты лишайника, нижняя — 1/3 высоты. Определение вторичных метаболитов, относящихся к группе микотоксинов, проводили в ближайший после сбора материала месяц.

Концентрацию 16 вторичных метаболитов: альтернариола (АОЛ), афлатоксина В₁ (АВ₁), дезоксиниваленола (ДОН), диацетоксисцирпенола (ДАС), зеараленона (ЗЕН), микофеноловой кислоты (МФК), охратоксина А (ОА), PR-токсина (PR), стеригматоцистина (СТЕ), Т-2 токсина (Т-2), фумонизина В₁ (ФУМ), циклопиазоновой кислоты (ЦПК), цитринина (ЦИТ), эмодина (ЭМО), эргоалкалоидов (ЭА), роридина А (РоА) определяли методом непрямого конкурентного ИФА по методике, описанной ранее [9]. Определение концентрации усниновой кислоты проводили в тех же экстрактах [10].

Статистическую обработку материала проводили с использованием программы Statistica 8,0. Для сравнения средних значений применяли критерий Стьюдента (t-критерий). Достоверно различающимися считались значения 95%, доверительные интервалы которых не перекрывались. В случае если распределение отличалось от нормального, использовали непараметрический критерий с тем же уровнем значимости (критерий Вилкоксона).

Результаты и обсуждение

По качественному составу микотоксинов исследованные виды лишайников различались. Наибольшее число микотоксинов найдено у *C. islandica* (13), наименьшее (3) — у *F. cucullata*. У видов рода *Cladonia* их число варьирует от 4 до 6 (табл. 1). Общими для всех исследованных видов лишайников были МФК и ЭМО. Четыре микотоксина (Т-2, ЗЕН, ФУМ, ОА) встречались в *C. islandica* редко, как правило, в следовых количествах, в некоторых образцах их уровень был на грани чувствительности метода, поэтому они не были включены в статистический анализ. Из 13 проб РР найден в 5 пробах только в нижней части (min — 155 нг/г, среднее — $233,6 \pm 45,3$ нг/г, max — 398 нг/г), а в верхней части не выявлен. Также в нижней части один раз (в количестве 143 нг/г) этот микотоксин присутствовал у *Flavocetraria nivalis*. Сравнение с ранее полученными данными [8, 9] не выявило новых микотоксинов у этих видов лишайников и еще раз показало, что наряду с постоянно встречающимися микотоксинами (например, у *C. rangiferina* это АОЛ, СТЕ, ЭМО) имеются микотоксины, которые присутствуют в этих организмах эпизодически.

Уровни одних и тех же микотоксинов у разных видов лишайников варьируют, но везде концентрация микотоксинов в нижних частях слоевищ и в подециях выше, чем в верхних, и для большинства микотоксинов эти различия были статистически значимы (табл. 1, 2). Достоверные различия показаны у *F. cucullata* для МФК и АОЛ, у *F. nivalis* для СТЕ и ЭМО, у *C. laevigata* для ЦПК, ЭМО, АОЛ, у *C. islandica* из 8 выявленных микотоксинов различия в верхней и нижней частях статистически значимы для 6. Исключение только по ЦИТ и ДОН (табл. 2). У видов рода *Cladonia* секции *Cladina* также для большинства микотоксинов найдены достоверные различия; исключение МФК и ЭА для *C. rangiferina* и ЦИТ и ЦПК для *C. stellaris*. В подециях *C. sulphurina* достоверные различия в содержании веществ выявлены только для МФК (табл. 1). Таким образом, распределение микотоксинов в слоевищах не зависело ни от таксономической принадлежности лишайников, ни от строения талломов (например, дорсовентральное — виды сем. Parmeliaceae, радиальное — виды рода *Cladonia*).

Сравнительный анализ как верхних частей талломов лишайников одних и тех же видов, собранных в раз-

ные годы в одном месте, так и их нижних частей между собой не выявил достоверно значимых различий в содержании микотоксинов. В то же время характер распределения микотоксинов в талломах (верх-низ) лишайников сохранялся.

В отличие от микотоксинов количество усниновой кислоты в разных частях слоевищ лишайников достоверно не различалось. Исключение *C. stellaris*. У этого вида концентрация усниновой кислоты в верхней части подециев была значительно выше по сравнению с нижней (табл. 3). Достоверное снижение содержания усниновой кислоты по направлению к нижней части у *Cladonia alpestris* (современное название *C. stellaris*) отмечали ранее А.П. Равинская и Е.А. Вайнштейн [11]. Более высокие значения этого вещества в верхних, молодых частях подециев по сравнению с нижними, старыми частями этого вида лишайника показала также Е.Н. Моисеева [12].

Продуцентами микотоксинов являются митофторовые грибы (раньше их называли несовершенные

Таблица 1

Содержание микотоксинов (нг/г) в видах рода *Cladonia*

Микотоксины	Верхняя часть таллома			Нижняя часть таллома		
	среднее	max	min	среднее	max	min
<i>C. rangiferina</i> (n = 14)						
АОЛ*	97,9 ± 23,0	316	22	622,1 ± 247,0	3550	59
СТЕ*	67,8 ± 27,9	316	8	361,7 ± 114,4	1260	10
МФК	43,3 ± 5,1	64	4	69,0 ± 13,8	184	4
ЭА	14,2 ± 7,6	33	2	41,5 ± 7,6	63	30
ЭМО*	328,5 ± 147,8	2000	30	889,9 ± 258,5	3310	81
<i>C. stellaris</i> (n = 25)						
АОЛ*	131,4 ± 33,2	501	24	695,6 ± 171,2	3550	79
ЦИТ	68,7 ± 19,6	394	22	94,1 ± 13,5	257	32
СТЕ*	143,1 ± 33,5	708	28	627,5 ± 119,7	2510	31
ЦПК	187,2 ± 18,5	266	128	236,2 ± 31,2	316	156
МФК*	90,1 ± 20,1	473	20	141,4 ± 26,3	631	40
ЭМО*	735,9 ± 295,3	6310	50	1998,5 ± 435,6	11220	200
<i>C. arbuscula</i> (n = 5)						
АОЛ*	1635,8 ± 593,1	3162	226	3056,6 ± 685,7	5248	1000
СТЕ*	67,4 ± 13,1	103	37	181,0 ± 95,5	562	66
МФК*	58,8 ± 3,5	70	49	111,0 ± 16,9	151	54
ЭМО*	1072,6 ± 105,0	1390	776	1759,8 ± 313,1	2818	1079
<i>C. sulphurina</i> (n = 3)						
АОЛ	174,3 ± 137,4	449	28	1208,7 ± 478,5	1995	343
ЦИТ	98,0 ± 25,1	141	54	130,3 ± 22,7	155	85
СТЕ	163,0 ± 65,5	294	94	441,0 ± 176,5	794	263
МФК*	148,3 ± 41,8	230	92	322,0 ± 75,5	473	245
ЭМО	1040,0 ± 542,1	2101	316	8078,0 ± 1836,7	10778	4571

Таблица 2

Содержание микотоксинов (нг/г) в видах сем. Parmeliaceae

Микотоксины	Верхняя часть таллома			Нижняя часть таллома		
	среднее	max	min	среднее	max	min
<i>Cetraria islandica</i> (n = 13)						
ДОН	120,4 ± 13,8	172	100	180,3 ± 58,9	298	117
ДАС*	169,7 ± 34,6	240	79	211,7 ± 31,9	381	100
ЦИТ	42,7 ± 8,4	52	26	68,5 ± 8,4	107	37
СТЕ*	59,1 ± 16,7	179	12	228,6 ± 54,5	631	31
ЦПК*	332,0 ± 61,4	692	102	421,1 ± 83,9	955	100
МФК*	53,4 ± 16,7	166	20	110,1 ± 46,8	525	40
ЭА*	2,7 ± 0,9	4	1	11,0 ± 4,2	22	2
ЭМО*	237,9 ± 57,5	602	30	746,9 ± 136,6	1985	50
<i>Cetraria laevigata</i> (n = 4)						
ЦПК*	202,5 ± 49,9	311	91	374,2 ± 35,9	479	324
МФК	27,0 ± 8,8	49	6	40,2 ± 9,8	68	22
ЭМО*	54,2 ± 13,6	91	26	130,7 ± 9,3	158	116
АОЛ*	33,7 ± 6,0	50	21	119,5 ± 19,1	160	68
<i>Flavocetraria nivalis</i> (n = 8)						
СТЕ*	175,4 ± 41,6	386	63	353,6 ± 85,1	794	50
МФК	106,6 ± 24,0	257	56	114,7 ± 20,8	200	40
ЦИТ	38,8 ± 11,5	83	22	98,0 ± 26,6	200	50
АОЛ	230,0 ± 78,5	526	47	420,7 ± 139,4	1259	27
ЭМО*	1688,9 ± 1009,7	8710	274	17597,5 ± 3872,3	35012	556
ДАС	150,8 ± 18,4	203	63	199,6 ± 28,2	372	132
<i>Flavocetraria cucullata</i> (n = 4)						
МФК*	115,7 ± 13,7	151	100	258,2 ± 35,2	320	172
АОЛ*	103,0 ± 10,6	129	78	728 ± 160,8	1000	266
ЭМО	138,0 ± 21,6	200	100	823,2 ± 423,8	2089	305

грибы) родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, обитающие на различных субстратах в природе [13—17]. В качестве контаминантов некоторые виды микроскопических грибов отмечены и в лишайни-

ках [18]. Многие митофторовые грибы, в том числе и виды родов, способные вырабатывать микотоксины, встречаются в почвах под лишайниками [19—22]. Обитающие в почве микроскопические грибы могли перейти на эпигейные лишайники. Более высокое содержание в верхних частях талломов лишайниковых кислот, которое обычно отмечают исследователи [23—26], может препятствовать проникновению сюда микроскопических грибов. Лишайниковые кислоты избирательно влияют на микроскопические грибы [27] и являются потенциальными агентами, препятствующими проникновению инфекции [28]. Это один из возможных вариантов объяснения наличия микотоксинов и их различного содержания внутри талломов разных видов лишайников. Возможен и другой путь. Изученные виды лишайников имеют кустистые слоевища и часто произрастают на почве куртинами, в которых отдельные особи лишайников соприкасаются друг с другом, а их лопасти и веточки подстилов переплетаются. В куртинах дольше сохраняется влага. Тесное соприкосновение слоевищ лишайников способствует в утренние часы капиллярному подъему воды вместе с растворенными в ней веществами из почвы вверх по лишайниковой куртине. В результате капиллярного поднятия воды лишайники могут поглощать микотоксины, находящиеся в почвенных растворах. Лишайники — пойкилогидридные организмы, не имеющие специальных органов для регулирования водообмена. Они пассивно впитывают влагу и так же пассивно ее отдают. Верхушки лишайников высыхают быстрее, чем их нижние части, расположенные ближе к почве, что, возможно, влияет на на-

Таблица 3

Содержание усниновой кислоты (нг/г) в лишайниках

Вид лишайника	Верхняя часть			Нижняя часть		
	среднее	max	min	среднее	max	min
<i>Flavocetraria cucullata</i> (n = 4)	14736,5 ± 4061,5	26915	10351	11258,0 ± 997,1	13032	9120
<i>Cetraria islandica</i> (n = 4)	16,5 ± 5,3	30	4	18,3 ± 7,7	34	1
<i>Cetraria laevigata</i> (n = 4)	11,0 ± 4,1	22	2	12,7 ± 4,0	24	6
* <i>Cladonia stellaris</i> (n = 3)	10242,0 ± 309,4	10715	9660	4467,7 ± 1305,7	7079	3162
<i>Cladonia rangiferina</i> (n = 7)	17,6 ± 4,0	37	6	32,7 ± 16,8	129	6
<i>Cladonia arbuscula</i> (n = 3)	141,7 ± 7,5	155	129	103,0 ± 6,1	114	93

копление микотоксинов верхними и нижними частями талломов. Для понимания механизмов накопления микотоксинов лишайниками требуются дальнейшие углубленные исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Plattelli M., Nicola M.G. Anthraquinone pigments from *Xanthoria parietina* (L.) // *Phytochemistry*. 1968. Vol. 7. N 7. P. 1183—1187.
2. Кривошекова О.Е., Максимов О.Б., Мищенко Н.П., Степаненко Л.С. Антрахиноны лишайников *Xanthoria aureola* и *X. ulophilloides* // *Химия природных соединений*. 1981. № 1. С. 96—97.
3. Мищенко Н.П., Степаненко Л.С., Кривошекова О.Е., Максимов О.Б. Антрахиноны лишайника *Asahinea chrysanthia* // *Химия природных соединений*. 1980. № 2. С. 160—165.
4. Krivoshchekova O.E., Maximov O.B., Stepanenko L.S., Mishchenko N.P. Quinones of the lichen *Cetraria cucullata* // *Phytochemistry*. 1982. Vol. 21. N 1. P. 193—196.
5. Tanahashi T., Takenaka Y., Nagakura N., Hamada N. 6H-Dibenzo[b, d]pyran-6-one derivatives from the cultured lichen mycobionts of *Graphis* spp. and their biosynthetic origin // *Phytochemistry*. 2003. Vol. 62. N 1. P. 71—75.
6. Буркин А.А., Кононенко Г.П. Первые сведения о контаминации ягеля микотоксинами // *Иммунология, аллергология, инфектология*. 2010. № 1. С. 185—186.
7. Буркин А.А., Кононенко Г.П. Контаминация ягеля микотоксинами // *Докл. РАСХН*. 2011. № 2. С. 56—58.
8. Burkin A.A., Tolpysheva T.Yu., Kononenko G.P. Preservation of secondary fungal metabolites in herbarium lichen specimens // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2012. Vol. 67. Iss. 3—4. P. 121—125.
9. Kononenko G.P., Burkin A.A., Tolpysheva T.Yu. Enzyme immunoassay of the secondary metabolites of micromycetes as components of lichen substances // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2012. Vol. 48. N 1. P. 71—76.
10. Буркин А.А., Кононенко Г.П., Толпышева Т.Ю. Иммуноферментный анализ усниновой кислоты в лишайниках // *Прикладная биохим. и микробиол.* 2013. Т. 49. № 3. С. 322—328.
11. Равинская А.П., Вайнштейн Е.А. Хемотаксономическое значение изменений содержания лишайниковых кислот // *Новости систематики низших растений*. 1975. Т. 12. С. 266—273.
12. Мусеева Е.Н. К вопросу о локализации ферментов и лишайниковых кислот в слоевище лишайников // *Бот. журн.* 1959. Т. 44. № 8. С. 1128—1134.
13. Moreau C. *Moulds. Toxins and Food*. Chichester; New-York; Brisbane; Toronto: John Wiley & Sons, 1979. 477 p.
14. Klich M.A. Identification of common *Aspergillus* species // *Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, the Netherlands. Wageningen, Ponsen Looijen*, 2002. 116 p.
15. Samson R.A., Frisvad J.C. *Penicillium* subgenus *Penicillium*: new taxonomic schemes, mycotoxins and other extrolites // *Stud. Mycol.* 2004. Vol. 49. 260 p.
16. Кононенко Г.П., Буркин А.А. Токсикообразующая способность грибов рода *Aspergillus* и оценка загрязненности циклопиазеновой кислотой кормовой продукции // *Микол. и фитопатол.* 2008. Т. 42. № 2. С. 178—184.
17. Буркин А.А., Кононенко Г.П. Продуценты микофеноловой кислоты в силосованных и зерновых кормах // *Прикладная биохим. и микробиол.* 2010. Т. 46. № 5. С. 592—598.
18. Girlanda M., Isocrone D., Bianco C., Luppi-Mosca A.M. Two foliose lichens as microfungi ecological niches // *Mycologia*. 1997. Vol. 89. N 4. P. 531—536.
19. Толпышева Т.Ю. К изучению почвенных грибов боров-белошников побережья Кандалакшского залива // *Новости систематики низших растений*. 1979. Т. 16. С. 108—113.
20. Толпышева Т.Ю. Влияние лишайников на видовой состав почвенных микроскопических грибов лишайниковых сосняков // *Ботан. журн.* 1979. Т. 64. № 5. С. 705—710.
21. Толпышева Т.Ю. Влияние лишайников на численность почвенных микроскопических грибов лишайниковых сосняков // *Бот. журн.* 1979. Т. 64. № 8. С. 1341—1344.
22. Толпышева Т.Ю. Влияние лишайников на заселение почв микроскопическими грибами // *Микол. и фитопатол.* 1979. Т. 13. № 3. С. 194—199.
23. Равинская А.П., Вайнштейн Е.А. Хемотаксономическое значение изменений содержания лишайниковых кислот // *Новости систематики низших растений*. 1975. Т. 12. С. 266—273.
24. Шаниро И.А. Содержание усниновой кислоты в лишайнике *Parmelia vagans* Nyl. // *Растительные ресурсы*. 1977. Т. 13. Вып. 3. С. 463—466.
25. Mirando M., Fahselt D. The effect of thallus age and drying procedure on extractable lichen substances // *Can. J. Bot.* 1978. Vol. 56. P. 1499—1504.
26. Hamada N. The distribution pattern of the medullary depsidone salazinic acid in the thallus of *Ramalina siliquosa* (lichens) // *Can. J. Bot.* 1982. Vol. 60. N 4. P. 379—382.
27. Толпышева Т.Ю. Влияние экстрактов из лишайников на грибы. III. Действие усниновой кислоты и атранорина на рост почвенных грибов // *Микол. и фитопатол.* 1985. Т. 19. № 6. С. 482—489.
28. Lawrey J.D. The chemical ecology of lichen mycoparasites: a review // *Can. J. Bot.* 1995. Vol. 73. Suppl. 1. P. 603—608.

Поступила в редакцию
12.11.13

**MYCOTOXINS, USNIC ACID, AND THEIR DISTRIBUTION IN THE LICHENS
BELONGING TO THE GENERA *CETRARIA*, *FLAVOCETRARIA*, *CLADONIA***

T.Yu. Tolpysheva

In thalli of lichens belonging to the genera *Cladonia* (4 species), *Cetraria* (2 species) and *Flavocetraria* (2 species), the content and the pattern of distribution of mycotoxins, and also usnic acid were studied using the method of immunoenzymatic analysis. Statistically significant differences were estimated between the upper and the lower parts of the thalli. The levels of the mycotoxins in the lower, older, parts of the thalli were higher than in upper, younger ones. The comparison of lichen specimens belonging to the same species which were collected in the same location in different years did not reveal statistically differences in the content of mycotoxins both in the upper and the lower parts of the thalli. Statistically significant differences in the usnic acid content were revealed only in the case of *C. stellaris*. In the upper part of the podetia of this species the usnic acid content was higher than in the lower one.

Key words: *lichens, mycotoxins, usnic acid.*

Сведения об авторах

Толпышева Татьяна Юрьевна — докт. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-27-226; e-mail: tolpysheva@mail.ru