

УДК 582.29-119.2:577.112.3(470.1-924.82)

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ БИОМАССЫ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЛИШАЙНИКОВ ТАЕЖНОЙ ЗОНЫ НА ЕВРОПЕЙСКОМ СЕВЕРО-ВОСТОКЕ РОССИИ

© 2017 Г.Н. Табаленкова, И.В. Далькэ, И.Г. Захожий

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, г. Сыктывкар

Статья поступила в редакцию 15.05.2017

Приведены данные о содержании свободных и белковых аминокислот в талломах 19 видов лишайников, обитающих в средней тайге на территории Республики Коми. Содержание белковых и свободных аминокислот в сухой массе талломов составляло в среднем 100 и 2 мг/г соответственно. Содержание аминокислот варьировало в широких пределах. Лишайники с цианопрокариотами характеризовались большим содержанием белковых аминокислот, чем лишайники с зеленой водорослью в качестве фотобионта. Выявлены корреляционные связи между содержанием азота и аминокислот. Показана положительная связь содержания белковых аминокислот с типом фотобионта. Полученные результаты существенно расширяют и дополняют представления о жизнедеятельности лишайников таёжной зоны европейского Северо-Востока России.

Ключевые слова: лишайники, аминокислотный состав, фотобионт, таёжная зона, Европейский Северо-Восток

Лишайники представляют собой своеобразную и относительно малоизученную группу низших растений-симбиотов. Они являются неотъемлемым компонентом многих экосистем и растительных сообществ. В значительной степени распространение и разнообразие лишайников зависит от климатических условий. В Республике Коми в составе биоты описано 866 вида лишайников, наиболее крупными являются семейства Lecanoraceae, Parmeliaceae и Cladoniaceae [5]. Лишайники – это устойчивая, саморегулирующаяся ассоциация гриба и водорослей [1]. Физические контакты мико- и фотобионта обеспечивают обмен веществ между компонентами лишайниковой ассоциации. Состав фотобионтов не является случайным, как правило, связан с определенными таксономическими группами лишайников [7]. Наиболее распространенными группами лишайниковых фотобионтов являются зеленые водоросли и цианопрокариоты [4]. Фотобионт снабжает гриб органическим углеродом и азотом, микобионт обеспечивает водоросль водой, некоторыми минеральными элементами. Симбиотическая ассоциация гетеротрофного грибного организма и водорослей – предполагает их взаимоотношения, как на уровне механических контактов, так и физиолого-биохимических взаимоотношений лишайниковых симбиозов [1]. Аминокислоты выполняют в живых организмах разнообразные функции. Их важность определяется той ролью, которую играют белки в процессах жизнедеятельности. В литературе имеются малочисленные

и разрозненные сведения по аминокислотному составу талломов лишайников [2, 3].

Цель работы: исследование аминокислотного состава талломов лишайников бореальной зоны Республики Коми.

Объектами служили 19 видов лишайников, относящихся к родам *Peltigera*, *Lobaria*, *Platismatia*, *Parmelia*, *Cetraria*, с разным типом фотобионта, включающим в себя водоросли и/или цианобактерии (табл.1). Субстраты, на которых произрастали исследованные виды лишайников, имели pH водной вытяжки в пределах 5,6-6,9. Образцы талломов отбирали в июле 2015-2016 гг., фиксировали жидким азотом и хранили при температуре -80°C.

Определение аминокислот проводили в лиофильно высушенном материале. Белковые аминокислоты определяли на аминокислотном анализаторе AAA T-339 (Чехия) после гидролиза навески в 6н HCl при 105°C в течение 24 ч. Определение свободных аминокислот проводили на аминокислотном анализаторе AAA-400 (Чехия) в системе литиевых буферов. Для их определения навески 3х-кратно экстрагировали 40% этанолом, выпаривали при температуре 50°C. Упаренный экстракт разводили в цитрат-литиевом буфере (pH 2,2), центрифугировали 10 мин. при 15 тыс. оборотов, фильтрат наносили на ионообменную колонку. Идентификацию и количественное содержание аминокислот в исследуемых образцах проводили по результатам разделения стандартной смеси аминокислот. Рассчитывали средние значения из трех биологических и двух аналитических повторностей. Влияние типа фотобионта (зеленые водоросли, и/или цианобактерии) на содержание аминокислот лишайников оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), при уровне значимости $\alpha=0,05$.

Полученные экспериментальные данные показывают значительные колебания содержания белковых аминокислот в талломах лишайников. Их

Табаленкова Галина Николаевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник. E-mail: tabalenkova@ib.komisc.ru

Далькэ Игорь Владимирович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник. E-mail: dalke@ib.komisc.ru

Захожий Илья Григорьевич, кандидат биологических наук, научный сотрудник. E-mail: zakhozhiy@ib.komisc.ru

содержание в сухой массе талломов изменялось от 19 до 200 мг/г. Высоким содержанием белковых аминокислот (140-200 мг/г) отличались лишайники фотобионтом, которых являются цианобактерии. Среди них выделялись представители рода *Peltigera*

(*P. scarbosa*, *P. membranacea* и *P. ponoiensis*). У этих же видов мы ранее отмечали сравнительно высокое накоплением азота [6]. Наименьшим содержание белковых аминокислот (10-40 мг/г) отличались лишайники с водорослевым фотобионтом.

Таблица 1. Эколого-биологическая характеристика исследованных видов лишайников

№	Вид	Жизненная форма	Фотобионт
1	<i>Cetraria islandica</i>	кустистый	зеленая водоросль
2	<i>Cladonia rangiferina</i>	кустистый	зеленая водоросль
3	<i>Cladonia stellaris</i>	кустистый	зеленая водоросль
4	<i>Stereocaulon condensatum</i>	кустистый	зеленая водоросль
5	<i>Evernia mesomorpha</i>	кустистый	зеленая водоросль
6	<i>Usnea hirta</i>	кустистый	зеленая водоросль
7	<i>Parmelia sulcata</i>	листоватый	зеленая водоросль
8	<i>Platismatia glauca</i>	листоватый	зеленая водоросль
9	<i>Lobaria pulmonaria</i>	листоватый	зеленая водоросль+ цианобактерии
10	<i>Peltigera aphthosa</i>	листоватый	зеленая водоросль+ цианобактерии
11	<i>Peltigera leucophlebia</i>	листоватый	зеленая водоросль+ цианобактерии
12	<i>Peltigera canina</i>	листоватый	цианобактерии
13	<i>Peltigera malacea</i>	листоватый	цианобактерии
14	<i>Peltigera membranacea</i>	листоватый	цианобактерии
15	<i>Peltigera neopolydactyla</i>	листоватый	цианобактерии
16	<i>Peltigera ponoiensis</i>	листоватый	цианобактерии
17	<i>Peltigera praetextata</i>	листоватый	цианобактерии
18	<i>Peltigera rufescens</i>	листоватый	цианобактерии
19	<i>Peltigera scarbosa</i>	листоватый	цианобактерии

При анализе аминокислотного состава было обнаружено 17 аминокислот, из которых цистин и метионин находился в следовых количествах. Их доля в сумме аминокислот не превышала 0,4%. Сравнительно высоким содержанием дикарбоновых кислот (53-65 мг/г сухой массы) и моноаминокарбоновых кислот (51-55 мг/г сухой массы) отличались лишайники с цианобактериями (*P. scarbosa*, *P. ponoiensis* и *P. membranacea*). Содержание этих аминокислот в хлоролишайниках была значительно

меньше и не превышало 15 мг/г сухой массы. Особенно выделялись кустистые лишайники *Usnea hirta* и *Evernia mesomorpha* (5-7 мг/г сухой массы). Несмотря на значительные различия в абсолютном содержании аминокислот, доля отдельных групп различалась незначительно. Основная часть белковых аминокислот (более 50% от всех аминокислот) приходилось на моно- и дикарбоновые кислоты (табл. 2).

Таблица 2. Доля аминокислот в талломах лишайников, % от суммы аминокислот

Аминокислоты	Вся выборка	Фотобионт		
		В	В+Ц	Ц
дикарбоновые	26,8±3,9	27,6±1,1	27,6±0,6	26,2±6,8
моноаминокарбоновые	30,6±2,9	33,0±1,9	28,6±1,6	31,0±2,5
алифатические	15,0±2,9	12,4±1,0	16,2±2,1	17,1±2,4
иминокислота	5,7±0,6	5,4±0,5	6,0±0,4	4,7±0,7
основные	13,7±1,9	13,5±2,7	13,6±0,4	12,7±1,6
серусодержащие	0,3±0,1	0,2±0,1	0,3±0,1	0,3±0,1
ароматические	7,8±0,9	7,8±1,2	7,7±0,4	8,0±0,9

Примечание: фотобионт: В – водоросль, В+Ц – водоросль+цианобактерии, Ц – цианобактерии.

К основным исходным веществам, обеспечивающим синтез белков, относятся свободные аминокислоты, они являются одними из самых активных участников метаболизма. Анализ содержания свободных аминокислот талломах лишайников показал, что их количество варьирует от 0,7 до 7 мг/г сухой массы (рис. 1).

Коэффициент вариации суммы свободных аминокислот был высоки и составлял более 90%. Даже в талломах лишайников одного рода (*Peltigerae*) их содержание изменялось от 0,8 у *Peltigera leucophlebia* до 4,8 мг/г сухой массы у *P. membranacea*. Максимальное количество свободных аминокислот – 7,18 мг/г сухой массы было отмечено

у *Lobaria pulmonaria*, которая характеризовалась и наибольшей интенсивностью фотосинтеза.

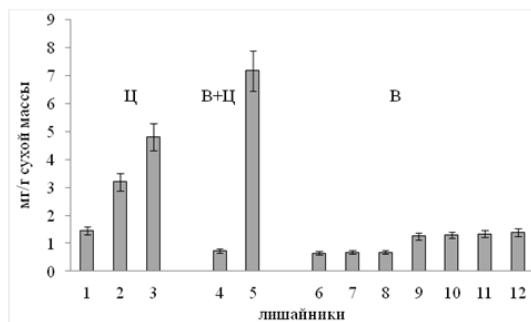


Рис. 1. Содержание свободных аминокислот в талломах лишайников:

фотобионт: В – водоросль, В+Ц – водоросль+цианобактерии, Ц – цианобактерии. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 – *Peltigera malacea*, *P. canina*, *P. membranacea*, *P. leucophlebia*, *Lobaria pulmonaria*, *Cladonia rangiferina*, *Parmelia sulcata*, *Cladonia stellaris*, *Evernia mesomorpha*, *Usnea hirta*, *Platismatia glauca*, *Cetraria islandica*, соответственно

В талломах разных видов лишайников было идентифицировано от 14 до 20 аминокислот и два амида. Содержание значительной части свободных

аминокислот составляло менее 2% от суммы. В их составе доминировало 3-4 соединения, содержание которых превышало 2%. Были идентифицированы свободные аминокислоты содержание которых менее 1% – цистатионин, цистеин, метионин, α -аминобутировая кислота, изолейцин, гистидин, 1-метилгистидин. Следует отметить, что разные виды лишайников отличались по составу доминирующих аминокислот (табл. 3). Так, у *Peltigera canina*, *P. membranacea*, *Parmelia sulcata*, *Platismatia glauca*, *Lobaria pulmonaria* свыше 80% приходилось на долю глутаминовой кислоты и глутамин, а в талломах *Peltigera malacea*, *P. leucophlebia* и *Cetraria islandica* преобладали аланин и аминокислоты. В составе свободных аминокислот лишайников обнаружено 5 непротеиногенных (β -аланин, орнитин, аминокислоты, α -аминобутировая кислота и γ -аминомасляная кислоты). Количество непротеиногенных аминокислот в общем пуле свободных изменялось от 0,2 у *Parmelia sulcata* до 40% у *Peltigera malacea* (табл. 3). Следует отметить наличие у всех видов лишайников непротеиногенной аминокислоты орнитина, что свидетельствует о функционировании в талломах орнитинового цикла, участвующего в синтезе протеиногенных аминокислот.

Таблица 3. Содержание свободных аминокислот в талломах лишайников, % от суммы

Аминокислоты	Фотобионт											
	цианобактерии (Ц)			В+Ц		водоросль (В)						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
аспаргиновая	3,9	0	0,5	1,6	0	2,4	4,2	1,9	3,4	4,1	8,5	9,1
треонин	0	0	0	0	0	0,7	1,0	0	2,8	1,8	7,3	1,6
серин	0	0	0	0	1,7	0,8	1,5	0	3,4	2,9	3,1	2,6
аспарагин	0	0	0	0	0	0	0	0	2,8	0	2,8	4,6
глутаминовая	0	64,0	66,2	0	36,2	81,9	72,7	0	9,2	15,1	20,8	29,3
глутамин	0	24,0	26,8	0	30,4	5,4	9,2	0	17,8	16,3	14,6	23,9
аминоадипиновая	22,3	0	0	6,4	0	0	0	13,1	0	0	0	0
пролин	0,7	0	0	6,4	0	4,8	5,0	0,7	2,2	0,3	13,7	14,2
глицин	1,0	0	0	2,3	0,9	0,2	0,6	1,1	2,0	1,6	2,1	1,4
аланин	36,1	0	0	54,5	8,4	1,6	3,4	41,8	16,3	10,1	4,7	5,0
валин	0,8	0,4	0,3	2,0	0	0,4	0,9	0,9	2	16,3	3,0	1,1
лейцин	1,2	0,6	0,3	1,4	0,8	0,7	0,7	1,4	3,5	2,2	1,2	1,5
тирозин	1,3	1,0	0,6	1,4	0,7	0	0	1,5	2,5	1,0	1,2	1,1
фенил-аланин	0,2	0,3	0,3	0,7	0,4	0	0	0,2	1,5	1,0	1,0	0,6
В-аланин	4,4	0	0	0	0	0	0	5,1	0	0	0	0
γ -аминобутировая	0,3	0,4	0,2	0,8	14,5	0,1	0,1	0,3	22,2	15,1	1,0	0,6
орнитин	13,5	1,8	1,7	14,7	0,7	0,1	0,1	15,5	0	0,4	0,3	0,2
лизин	1,7	0,8	0,4	2,7	1,9	0,3	0,1	2,0	3,2	3,5	4,3	0,8
аргинин	9,7	4,9	1,9	2,8	1,5	0,6	0,1	11,2	2,9	3,8	8,1	1,6

Примечание: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 – *Peltigera malacea*, *P. canina*, *P. membranacea*, *P. leucophlebia*, *Lobaria pulmonaria*, *Platismatia glauca*, *Parmelia sulcata*, *Cetraria islandica*, *Cladonia rangiferina*, *Cladonia stellaris*, *Evernia mesomorpha*, *Usnea hirta*, соответственно. В таблице представлены аминокислоты, содержание которых у большинства видов превышает 1%.

Полученные экспериментальные данные показывают значительные количественные изменения содержания аминокислот в талломах лишайников,

минимальные и максимальные значения отличаются на порядок. В среднем содержание белковых аминокислот составило около 100 мг/г сухой массы,

свободных аминокислот до 2 мг/г сухой массы таллома (табл. 4). Медианные значения выборки по содержанию аминокислот отличались от средних, что свидетельствует о небольшом смещении нормальности распределения первичных данных. Коэффициент вариации изученных биохимических показателей был высоким, от 60 до 90% (табл. 4).

Анализ данных показал, что содержание белковых и свободных аминокислот статистически значимо коррелирует с концентрацией общего азота в талломах (p -величина < 0.05). Корреляция между суммой белковых и суммой свободных аминокислот была статистически незначимой (p -величина $= 0.175$) (табл. 5).

Таблица 4. Описательная статистика содержания общего азота (N) и аминокислот (АК) в талломах лишайников

Показатели	Нобщ.	Сумма белковых АК	Сумма свободных АК
количество измерений	19,0	19	12
среднее значение	22,2	102,8	2,1
ошибка среднего	2,9	15,9	0,6
медиана	22,0	111,8	1,4
минимум	5,3	19,1	0,7
максимум	39,6	202,1	7,2
размах	34,3	183,0	6,5
коэффициент вариации, %	56	67	97

Таблица 5. Корреляционная матрица содержания общего азота (Нобщ.) и аминокислот (АК) в талломах лишайников

Показатели	Нобщ.	Сумма белковых АК	Сумма свободных АК
Н общ.	1	0,78	0,62
сумма белковых АК		1	0,42
сумма свободных АК			1

Примечание: выделены статистически значимые коэффициенты корреляции Спирмена при $\alpha 0,05$.

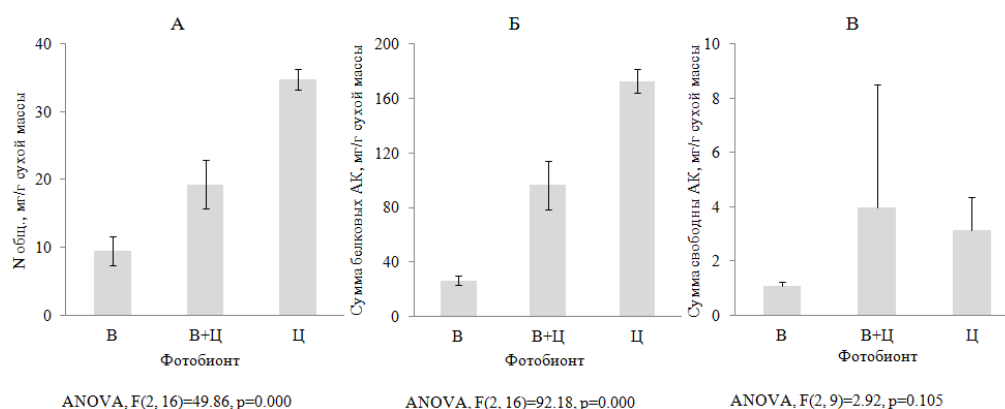


Рис. 2. Содержание общего азота (А), суммы белковых аминокислот (Б) и суммы свободных аминокислот (В) в талломах лишайников с разным типом фотобионта:

В – водоросли, В+Ц – водоросли и цианобактерии, Ц – цианобактерии; приведены результаты дисперсионного анализа (ANOVA) зависимости изученных показателей от типа фотобионта лишайников

Дисперсионный анализ (ANOVA) показал статистически значимое влияние типа фотобионта лишайников на содержание общего азота и сумму белковых аминокислот в их талломах (p -величина $= 0,000$). Однако сумма свободных аминокислот не зависела от типа фотобионта (p -величина $= 0,105$) (рис. 2).

Выводы: получены оригинальные данные об аминокислотном составе талломов лишайников бореальной зоны. Выявлена существенная межви-

дочная изменчивость в содержании белковых и свободных аминокислот. Установлено наличие положительной связи между уровнем накопления азота и содержанием белковых, и свободных аминокислот. Показана положительная связь содержания белковых аминокислот с типом фотобионта. В целом, полученные результаты существенно углубляют и расширяют представление о жизнедеятельности лишайников таежной зоны европейского Северо-Востока России.

Авторы признательны Т.Н. Пыстиной и Н.А. Семеновой за помощь в определении видов лишайников. Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных исследований Президиума РАН по направлению «Живая природа: современное состояние и проблемы развития» (проект 15-12-4-4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Вайнштейн, Е.А. Регуляторные механизмы лишайникового симбиоза // Успехи современной биологии. 1990. Т. 109. Вып. 2. С. 311-320.
2. Вершинина, С.Э. Состав аминокислот лишайника *Cetraria islandica* в Восточной Сибири / С.Э. Вершинина, О.Ю. Кравченко // Пищевые технологии, качество и безопасность продуктов питания. – Иркутск: изд-во ИрГТУ, 2008. С. 23-25.
3. Вершинина, С.Э. Аминокислотный состав двух видов лишайников рода *Cetraria* / С.Э. Вершинина, О.Ю., Кравченко // Хранение и переработка сельхозсырья. 2011. № 1. С. 26-28.
4. Войцехович, А.А. Фотобионты лишайников, I: разнообразие, экологические особенности, взаимоотношения и пути совместной эволюции с микобиотом / А.А. Войцехович, Т.И. Михайлюк, Т.М. Дариенко // Альгология. 2011. Т. 21. С.3-26.
5. Пыстина, Т.Н. Лишайники таежных лесов Европейского Северо-Востока (подзоны южной и средней тайги). – Екатеринбург: УрО РАН, 2003. 239 с.
6. Табаленкова Г.Н. Элементный состав биомассы некоторых видов лишайников бореальной зоны на европейском Северо-Востоке / Г.Н. Табаленкова, И.В. Далькэ, Т.К. Головки // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2016. Т. 16. № 2. С. 221-225.
7. Флора лишайников России: Биология, экология, разнообразие, распространение и методы изучения лишайников. Монография. отв. ред. М.П. Андреев, Д.Е. Гимельбрант. – М., СПб.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. 392 с.

AMINO ACIDS COMPOSITION OF SOME LICHEN SPECIES IN TAIGA ZONE OF EUROPEAN NORTH-EAST OF RUSSIA

© 2017 G.N. Tabalenkova, I.V. Dalke, I.G. Zakhozhiy

Institute of Biology Komi Scientific Centre UrB RAS, Syktyvkar

Data on amino acids content in the thalli of 19 lichen species in the middle taiga on the territory of the Komi Republic were presented. The protein and free amino acids content in dry weight of thalli was 100 and 2 mg/g respectively. Cyanolichens were characterized by a high content of protein amino acids, than that of chlorolichens. The correlations between the nitrogen and amino acids content were revealed. There is the positive association of the protein amino acids content with the photobiont type. The obtained results expand and deepen the traits of the lichen biota in the taiga zone of European North-East of Russia.

Key words: lichen, protein and free amino acids, nitrogen, photobiont, taiga zone, European North-East

Galina Tabalenkova, Doctor of Biology, Leading Research Fellow.

E-mail: tabalenkova@ib.komisc.ru

Igor Dalke, Candidate of Biology, Senior Research Fellow. E-mail:

dalke@ib.komisc.ru

Ilya Zakhozhiy Candidate of Biology, Research Fellow. E-mail:

zakhozhiy@ib.komisc.ru