

УДК 615.32: 547.972+543.544

DOI 10.29039/2413-1725-2024-10-4-259-264

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЗДОРОВЫХ
И ПОРАЖЕННЫХ ГРИБАМИ *GOLOVINOMYCES CICHORACEARUM* (DC.)
HELUTA И *PUCCINIA LACTUCARUM* P. SYD. ЛИСТЬЕВ ЛАТУКА
ДУБРАВНОГО *LACTUCA QUERCINA* L., ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО
В ГОРНОМ КРЫМУ**

Гришкова В. И., Просянникова И. Б., Шмакова Е. А.

*Институт биохимических технологий, экологии и фармации (структурное подразделение)
ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», Симферополь,
Республика Крым, Россия
E-mail: vladgri@ukr.net*

Проведено сравнительное фитохимическое изучение здоровых и больных растений *Lactuca quercina* L., пораженных двумя видами облигатных фитотрофных грибов-паразитов – мучнисторосяного *Golovinomyces cichoracearum* (DC.) *Heluta* и ржавчинного *Puccinia lactucarum* P. Syd., произрастающих в Горном Крыму. В составе листьев как здорового, так и пораженного грибами питающего растения идентифицированы преобладающие вторичные метаболиты – известные фенольные соединения (флавоноиды) апигенин, лютеолин, кверцетин, 7-О-β-D-глюкопиранозид лютеолина и 3-О-β-D-глюкопиранозид кверцетина. Установлено, что поражение грибами практически не изменяет как качественный, так и количественный состав фенольных соединений. Отмечено лишь незначительное увеличение доли негликозильированных форм фенольных соединений, что предположительно связано с гликозидазной активностью ферментных систем паразитных грибов.

Ключевые слова: *Lactuca quercina* L., грибы-паразиты *Golovinomyces cichoracearum* и *Puccinia lactucarum*, Asteraceae, вторичные метаболиты, флавоноиды, апигенин, лютеолин, кверцетин, 7-О-β-D-глюкопиранозид лютеолина и 3-О-β-D-глюкопиранозид кверцетина.

ВВЕДЕНИЕ

Умеренно-холодный и влажный климат Крымских гор с элементами средиземноморского климата способствует развитию разнообразной флоры и столь же разнообразной по видовому составу фитотрофной микобиоты. В Горном Крыму среди зарослей «дубков» – участков дубового и дубового-грабового леса, с преобладанием низкорослого дуба пушистого (*Quercus pubescens* Willd.) в окрестностях пгт. Научный Бахчисарайского района Республики Крым была обнаружена ценопопуляция латука дубравного *Lactuca quercina* L. (Asteraceae) с признаками поражения листьев двумя видами фитотрофных облигатных грибов-паразитов – мучнисторосяного *Golovinomyces cichoracearum* (DC.) *Heluta* и ржавчинного *Puccinia lactucarum* P. Syd.

Ранее этот вид растения, культивируемый в Саду медицинских растений Института фармакологии Польской академии наук в Кракове, исследовался польскими учеными, обнаружившими в корнях растения сесквитерпеновые лактоны [1], а в листьях флавоноиды и их гликозиды [2].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Идентификацию образцов грибов *Golovinomyces cichoracearum* и *Puccinia lactucarum* на листьях растения-хозяина проводили стандартным методом с помощью определителей [3, 4], а название растения-хозяина представлено по источнику [5]. Современный таксономический статус видов грибов приведен согласно интерактивным базам – Index Fungorum [6] и Mycobank Database [7].

Здоровые и пораженные грибами *G. cichoracearum* и *P. lactucarum* листья *Lactuca quercina* собраны в июне 2024 года в фазе массового цветения растения в окрестностях поселка городского типа Научный и высушены без нагревания в проветриваемом помещении до состояния ломкости.

Для анализа химического состава навески здоровых и пораженных листьев весом по 0,2 г тщательно измельчены в ступке с добавлением кварцевого песка до пылевидного состояния и экстрагированы 70 %-ным водным этиловым спиртом при комнатной температуре с выдержкой в течение 10 дней. Экстракты анализировались тонкослойной хроматографией на пластинках Silufol с использованием следующих хроматографических систем растворителей: хлороформ–метанол (9:1), хлороформ–метанол (8:2), хлороформ–метанол (7:3), насыщенными дистиллированной водой или 25 %-ным водным аммиаком. Системы растворителей хлороформ–метанол в пропорции 9:1 использовались для свободных флавоноидов, остальные – для их гликозилированных форм.

В качестве «свидетелей» при хроматографическом детектировании фенольных соединений (ТСХ) использованы заведомые образцы апигенина, лютеолина, кверцетина и их глюкозидов – 7-О-β-D-глюкопиранозида лютеолина и 3-О-β-D-глюкопиранозида кверцетина.

Детектирование хроматографических зон проводили с помощью УФ-излучения (365 нм), а также помощью спиртовых растворов хлорида алюминия, фосфорновольфрамовой кислоты, серной кислоты с последующим нагреванием хроматограмм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

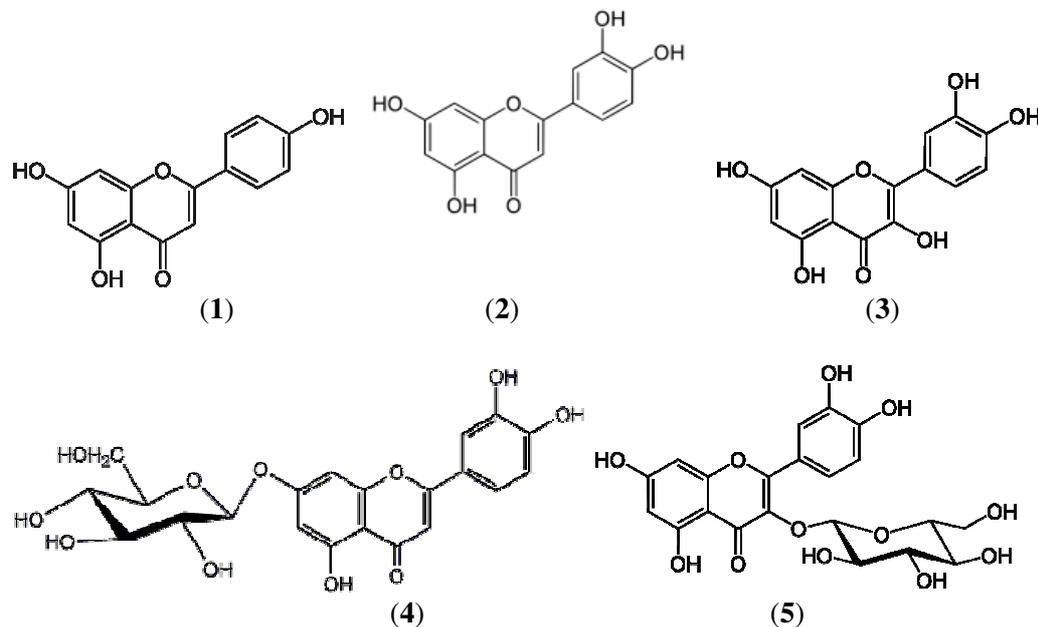
Согласно данным литературы питающее растение латук дубравный *Lactuca quercina* имеет европейско-средиземноморский ареал, который охватывает Европу от юго-восточной ее части до центральной Германии, а на востоке его границы доходят вплоть до юга России, включая Крымский полуостров. *L. quercina* является двулетней монокарпической травой, высотой 60–200 см, цветёт преимущественно в летний (6–8 месяцы) период, является мезофитом по отношению к водному режиму и сциогелиофитом по отношению к световому режиму, по своей природе является аэропедофитом, по отношению к солевому режиму – гликофитом, растение ядовито

и встречается очень редко на лесных опушках, среди кустарников только в Горном Крыму [8, 9]). В Германии *L. quercina* считается видом, находящимся под угрозой исчезновения [10].

В настоящей работе мы провели сравнительное фитохимическое исследование листьев *L. quercina*, произрастающего в Горном Крыму. Исследовались листья в здоровом состоянии и пораженные двумя видами облигатных грибов-паразитов – *G. cichoracearum* и *P. lactucarum*.

Экстракцию листьев *L. quercina* проводили обычно используемым 70 %-ным водным этиловым спиртом, извлекающим как вещества малой, так и средней полярности, за исключением белков и полисахаридов. Экстракты анализировали методом тонкослойной хроматографии. Использование в качестве детектирующего реагента фосфорновольфрамовой кислоты показало отсутствие соединений терпеноидной природы, тогда как использование других детектирующих реагентов (хлорида алюминия, серной кислоты) и просмотр хроматограмм под УФ-излучением (365 нм) показало наличие фенольных соединений (флавоноидов) по характерной окраске хроматографических зон и люминесценции.

Хроматографическое сравнение с заведомыми образцами в различных системах растворителей позволило детектировать в экстрактах листьев следующие известные флавоноиды и их глюкозиды – апигенин (1), лютеолин (2), кверцетин (3), 7-О-β-D-глюкопиранозид лютеолина (4) и 3-О-β-D-глюкопиранозид кверцетина (5). Эти соединения, судя по относительной площади хроматографических зон, находится примерно в сопоставимых количествах, тогда как количество кверцетина (3) существенно меньше. Соединения 1, 2, 4 и 5 ранее были выделены из листьев *L. quercina*, произрастающей в Польше [2].



Анализ хроматограмм экстрактов листьев показывает, что поражение грибами практически не изменяет как качественный, так и количественный состав фенольных соединений листьев *L. quercina*. Отмечено лишь незначительное увеличение доли негликозилированных форм фенольных соединений (1–3), что предположительно связано с гликозидазной активностью ферментных систем грибов. Очевидно, что поражение паразитными грибами *Golovinomyces cichoracearum* и *Puccinia lactucarum* практически не затрагивает биосинтез флавоноидов растения-хозяина *Lactuca quercina*, являющихся вторичными метаболитами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Исследованы здоровые и пораженные двумя видами фитотрофно-облигатных грибов-паразитов – мучнисторосяного *Golovinomyces cichoracearum* и ржавчинного *Puccinia lactucarum* растения *Lactuca quercina*, произрастающего в Горном Крыму.
2. В листьях растения методом ТСХ идентифицированы апигенин, лютеолин, кверцетин, 7-О-β-D-глюкопиранозид лютеолина и 3-О-β-D-глюкопиранозид кверцетина.
3. Показано, что поражение грибами практически не изменяет как качественный, так и количественный состав фенольных соединений.

Список литературы

1. Kisiel W. Sesquiterpene lactones from roots of *Lactuca quercina* / W. Kisiel, E. Szneler // Pol. J. Chem. – 1998. – Vol. 72. – P. 799–802.
2. Kisiel W. Flavonoids from *Lactuca quercina* and *L. tatarica* / W. Kisiel // Acta Societatis Botanicorum Poloniae. – 1998. – Vol. 67, № 3-4. – P. 247–248.
3. Braun, U. Taxonomic Manual of the Erysiphales (Powdery Mildews) / U. Braun, R. T. A. Cook. // CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands, 2012. – Vol. 11. – 707 p.
4. Купревич, В. Ф. Определитель ржавчинных грибов СССР. Часть 1 / В. Ф. Купревич, В. И. Ульянищев. – Минск: Наука и техника, 1975. – Ч. 1. – 485 с.
5. WFO The Plant List [электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.theplantlist.org> (дата обращения: 15.11.2024).
6. Index Fungorum [электронный ресурс]. 2003. Режим доступа: <http://www.indexfungorum.org> [веб-сайт, версия 1.00] (дата обращения: 12.11.2024).
7. Mycobank Database [электронный ресурс]. 2004. Режим доступа: <http://www.mycobank.org> (дата обращения: 12.11.2024).
8. Определитель высших растений Крыма / под общей ред. Рубцова Н. И. – Л.: Наука, 1972. – 550 с.
9. Голубев В. Н. Биологическая флора Крыма / В. Н. Голубев. – Ялта, НБС-ННЦ, 1996. – 126 с.
10. *Lactuca quercina* L. [электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.floraweb.de/php/artenhome.php?suchnr=3245&> (дата обращения: 15.11.2024).

COMPARATIVE PHYTOCHEMICAL STUDY OF HEALTHY AND FUNGAL-AFFECTED *GOLOVINOMYCES CICHORACEARUM* (DC.) HELUTA AND *Puccinia lactucarum* P. SYD. LEAVES OF *LACTUCA QUERCINA* L., NATIVE TO THE MOUNTAINOUS CRIMEA

Grishkovets V. I., Prosyannikova I. B., Shmakova E. A.

V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia
E-mail: vladgri@ukr.net

The *Lactuca quercina* L. plant is poisonous and is very rare on forest edges, among shrubs in the Mountainous Crimea. A comparative phytochemical study of the leaves *L. quercina* of, which grows wildly in the obligate phototrophic parasitic fungi *Golovinomyces cichoracearum* и *Puccinia lactucarum* area of the Crimean Peninsula in a healthy state and affected by the parasitic fungi. Leaves in a healthy state and affected by two types of obligate parasite fungi were studied – *G. cichoracearum* and *P. lactucarum* in the mass flowering phase. Leaf extraction was carried out with a commonly used 70 % aqueous ethyl alcohol, which extracts both substances of low and medium polarity, with the exception of proteins and polysaccharides. The extracts were analyzed by thin-layer chromatography. The use of phosphoric acid as a detecting reagent showed the absence of terpenoid compounds, whereas the use of other detecting reagents (aluminum chloride, sulfuric acid) and viewing chromatograms under UV radiation (365 nm) showed the presence of phenolic compounds (flavonoids) by the characteristic color of chromatographic zones and luminescence.

Chromatographic comparison with known samples in various solvent systems made it possible to detect the following known flavonoids and their glucosides in leaf extracts – apigenin (1), luteolin (2), quercetin (3), 7-O- β -D-glucopyranoside of luteolin (4) and 3-O- β -D-glucopyranoside of quercetin (5). These compounds, judging by the relative area of the chromatographic zones, are found in approximately comparable quantities, whereas the amount of quercetin (3) is significantly less. Compounds 1, 2, 4 and 5 were previously isolated from the leaves of *L. quercina*, native to Poland.

The analysis of chromatograms of leaf extracts shows that the fungal lesion practically does not change both the qualitative and quantitative composition of phenolic compounds. There was only a slight increase in the proportion of non-glycosylated forms of phenolic compounds (1-3), which is presumably related to the glycosidase activity of the enzyme systems of the fungus. It is obvious that the defeat of the parasite fungi *G. cichoracearum* and *P. lactucarum* practically does not affect the biosynthesis of *L. quercina* flavonoids, which are secondary metabolites.

Keywords: *Lactuca quercina* L., parasitic fungi *Golovinomyces cichoracearum* and *Puccinia lactucarum*, Asteraceae, secondary metabolites, flavonoids, apigenin, luteolin, quercetin, 7-O- β -D-glucopyranoside of luteolin and 3-O- β -D-glucopyranoside of quercetin.

References

1. Kisiel W., Szneler E., Sesquiterpene lactones from roots of *Lactuca quercina*, *Pol. J. Chem.*, **72**, 799 (1998).
2. Kisiel W. Flavonoids from *Lactuca quercina* and *L. tatarica*, *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, **67** (3-4), 247 (1998).
3. Braun U., Cook R. T. A., *Taxonomic Manual of the Erysiphales (Powdery Mildews)* (Publishing House CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands), **11** (2012).
4. Kuprevich V. F., Ulyanischev V. I., *Determinant of rust fungi of the USSR*. Part 1 (Science and Technology, Minsk, 1975). (*in Russ.*).
5. *WFO The Plant list* [electronic resource]. 2013. Access mode: <http://www.theplantlist.org/> (reference date: 15.11.2024).
6. *Index Fungorum* [electronic resource]. 2003. Access mode: <http://www.indexfungorum.org> [website, version 1.00] (reference date: 12.11.2024).
7. *Mycobank Database* [electronic resource]. 2004. Access mode: <http://www.mycobank.org> (reference date: 12.11.2024).
8. *Determinant of higher plants of the Crimea* (Nauka, Leningrad, 1972). (*in Russ.*).
9. Golubev V. N. *Biological flora of Crimea* (NBS-NNTs, Yalta, 1996). (*in Russ.*).
10. *Lactuca quercina* L. [electronic resource]. Access mode: <https://www.floraweb.de/php/artenhome.php?suchnr=3245> & (reference date: 15.11.2024).