

## Badania nad karotenoidami u grzybów. IX. Dacrymycetaceae

BAZYLI CZECZUGA

Zakład Biologii Ogólnej Akademii Medycznej w Białymstoku

Czczuga B.: (Department of General Biology, Medical Academy, Kilińskiego 1, 15-230 Białystok). *Investigations on carotenoids in fungi. IX. Dacrymycetaceae*. Acta Mycol. XVI (1): 115-120, 1980.

The autor used column and thin-layer chromatography to determine the occurrence and quantitative relationships of particular carotenoids in fruit-bodies of the *Calocera viscosa* and *Dacrymyces deliquescens*.

The predominant carotenoid was  $\beta$ -carotene and its derivatives.

### WSTĘP

Niektóre gatunki grzybów należące do rodziny *Dacrymycetaceae* mają intensywnie żółty kolor owocników, podobny do barwy niektórych gatunków z rodzaju *Cantharellus*. Haxo (1950) badając występowanie poszczególnych karotenoidów w owocnikach *Cantharellus cinnabarinus* stwierdził w nich dużą ilość kantaksantyny. Natomiast owocniki *C. cibarius* w największej ilości zawierają  $\beta$ -karoten (Turian 1960; Fiasson, Arpin 1967). Powstało więc pytanie, czy w owocnikach gatunków należących do *Dacrymycetaceae*, których kolor przypomina owocniki *Cantharellus cibarius*, dominującym karotenoidem jest  $\beta$ -karoten czy kantaksantyna.

### MATERIAŁ I METODY

Zbadano owocniki *Calocera viscosa* Pers. ex Fr. oraz *Dacrymyces deliquescens* (Merat) Duby, które zebrano w sierpniu w Puszczy Knyszyńsko-Białostockiej.

Zebrany materiał zalewano 95% acetonem w butelkach z ciemnego szkła i do chwili analizy przechowywano w lodówce w atmosferze azotu.

Rozdziału poszczególnych barwników karotenoidowych dokonano metodą chromatografii kolumnowej i cienkowarstwowej. Badany materiał poddano przedtem hydrolizie w atmosferze azotu w temperaturze pokojowej w ciągu 24 godzin. Po hydrolizie ekstrakt puszczano na kolumnę wypełnioną  $Al_2O_3$ . Długość kolumn wahała się od 15 do 25 cm (firmy Quickfit — Anglia). Poszczególne frakcje eluowano używając do tego różnych układów rozpuszczalników (Czeczuga 1974). Następnie eluent odparowywano, a pozostałość po odparowaniu rozpuszczono w odpowiednim rozpuszczalniku celem wykreślenia krzywej absorpcji; maksima służyły między innymi do identyfikacji poszczególnych karotenoidów. Maksima absorpcji oznaczano posługując się spektrofotometrem Unicam oraz Specol.

Niezależnie od chromatografii kolumnowej uzyskany ekstrakt acetonowy rozdzielano na poszczególne pasma za pomocą chromatografii cienkowarstwowej. Posługiwano się płytkami szklanymi o wymiarach  $15 \times 40$  cm, które pokrywano żelalem krzemionkowym (Silicagel), po czym specjalną mikropipetą nanoszono ekstrakt acetonowy na linię startu, używając do rozwijania chromatogramu różnych układów rozpuszczalników (Czeczuga 1974). Następnie ustalono wartość  $R_f$  wg powszechnie przyjętych zasad.

Identyfikację poszczególnych karotenoidów przeprowadzono na podstawie maksimum absorpcji poszczególnych frakcji, wartości  $R_f$ , testu epoksydowego, a także uzyskanych stosunków epifazy i hipofazy. Ponadto dla takich karotenoidów jak  $\beta$ -karoten,  $\gamma$ -karoten oraz kantaksantyna stosowano chromatografię z wzorcami (firmy Hoffmann-La Roche — Szwajcaria). Stosunki ilościowe poszczególnych karotenoidów oznaczano metodą Daviesa (Czeczuga 1974).

#### WYNIKI BADAŃ

W owocnikach *Calocera viscosa* zidentyfikowano 8 karotenoidów, wśród których dominującym okazał się  $\beta$ -karoten, stanowiący 44,9% wszystkich karotenoidów stwierdzonych w owocnikach tego gatunku. W pokaźnych ilościach wystąpiły takie ksantofile jak 5,6-dihydro-5,6-dihydroksylikopen (9,3%), 1,2,1',2'-tetrahydro-1,1'-dihydroksylikopen (7,5%) oraz rubiksantyna (8,3%). W mniejszych nieco ilościach stwierdzono takie ksantofile, jak mutatoksanantyna (4,2%), kantaksantyna (4,2%), zeaksantyna (5,4%), ester aleuriaksantyny (4,3%) oraz 3,4,4'-trihydroksy- $\beta$ -karoten (5,5%). Ogólna zawartość karotenoidów w owocnikach tego gatunku wynosiła 5,48  $\mu$ g/g świeżej masy (tab. 1).

Jeżeli chodzi o owocniki *Dacrymyces deliquescens*, to stwierdzono w nich 7 karotenoidów, wśród których w największych ilościach wystąpił

również  $\beta$ -karoten oraz  $\gamma$ -karoten;  $\beta$ -karoten stanowił 27,1%, a  $\gamma$ -karoten — 23,7% wszystkich karotenoidów stwierdzonych w owocnikach tego grzyba. W pokąźnych ilościach stwierdzono ester aleuriaksantyny (15,1%), 1,2,1',2'-tetrahydro-1,1'-dihydroksylikopen (10,8%) oraz bliżej nieokreślony ksantofil (11,1%). Pozostałe karotenoidy, takie jak  $\beta$ -kryptoksantyna, mutachrom oraz rubiksantyna, stanowiły po kilka procent (tab. 1). W owocnikach *Dacrymyces deliquescens* nie ustalono obecności kantaksantyny.

Tabela 1 — Table 1

Procentowa zawartość poszczególnych karotenoidów u badanych przedstawicieli *Dacrymycetaceae*  
Per cent content of particular carotenoids in the examined representative of *Dacrymycetaceae*

Nazwa karotenoidów Name of carotenoides	<i>Calocera viscosa</i>	<i>Dacrymyces deliquescens</i>
$\beta$ -karoten — $\beta$ -carotene	44,9	27,1
$\gamma$ -karoten — $\gamma$ -carotene		23,7
ksantaksantyna — canthaxanthin	4,1	
$\beta$ -kryptoksantyna — $\beta$ -cryptoxanthin		5,3
mutachrom — mutachrome		2,7
mutatoksantyna — mutatoxanthin	4,2	
rodopin — rhodopin		4,2
rubiksantyna — rubixanthin	8,3	
zeaksantyna — zeaxanthin	5,4	
ester aleuriaksantyny — aleuriaxanthin ester	4,3	15,1
5,6-dihydro-5,6-dihydroksylokopen — 5,6-dihydro-5,6-dihydroxylycopene	9,3	
1,2,1',2'-tetrahydro-1,1'-dihydroksylokopen — 1,2,1',2'-tetrahydro-1,1'-dihydroxylycopene	7,5	10,8
3,4,4'-trihydroksy- $\beta$ -karoten — 3,4,4'-trihydroxy- $\beta$ -carotene	5,5	
Nieznany — unknown	6,5	11,1

## DYSKUSJA

Porównując uzyskane wyniki należy stwierdzić, że w owocnikach obydwu badanych gatunków grzybów wystąpiły takie karotenoidy, jak  $\beta$ -karoten, 1,2,1',2'-tetrahydro-1,1'-dihydroksylikopen oraz ester aleuriaksantyny. Jeśli chodzi o kantaksantynę, to stwierdzono jej obecność tylko w owocnikach *Calocera viscosa* i to w niewielkich ilościach (4,1%). Ponadto na podkreślenie zasługuje ustalenie w owocnikach *Dacrymyces*

*deliquescens* obecności  $\beta$ -kryptoksantyny, która stanowiła 5,3% wszystkich karotenoidów. Turian (1960), badając występowanie karotenoidów w owocnikach *Calocera viscosa*, wykazał obecność kantaksantyny jako jednego z dominujących karotenoidów. Na podkreślenie zasługuje występowanie w największych ilościach w owocnikach obydwu gatunków  $\beta$ -karotenu, który w owocnikach *Calocera viscosa* stanowił 44,9%, a w owocnikach *Dacrymyces deliquescens* — 27,1% stwierdzonych karotenoidów. Na występowanie w owocnikach *Calocera viscosa* dużych ilości  $\beta$ -karotenu wskazuje również Turian (1960), a w owocnikach *Dacrymyces stillatus* — Goodwin (1953). Jak wynika z analizy chromatograficznej dominującym karotenoidem u badanych przedstawicieli *Dacrymycetaceae*, podobnie jak u *Cantharellus cibarius*, jest  $\beta$ -karoten, a nie kantaksantyna, jak to stwierdził Haxo (1950). U badanych gatunków grzybów kantaksantyna albo w ogóle nie występuje, albo występuje tylko w niewielkich ilościach.

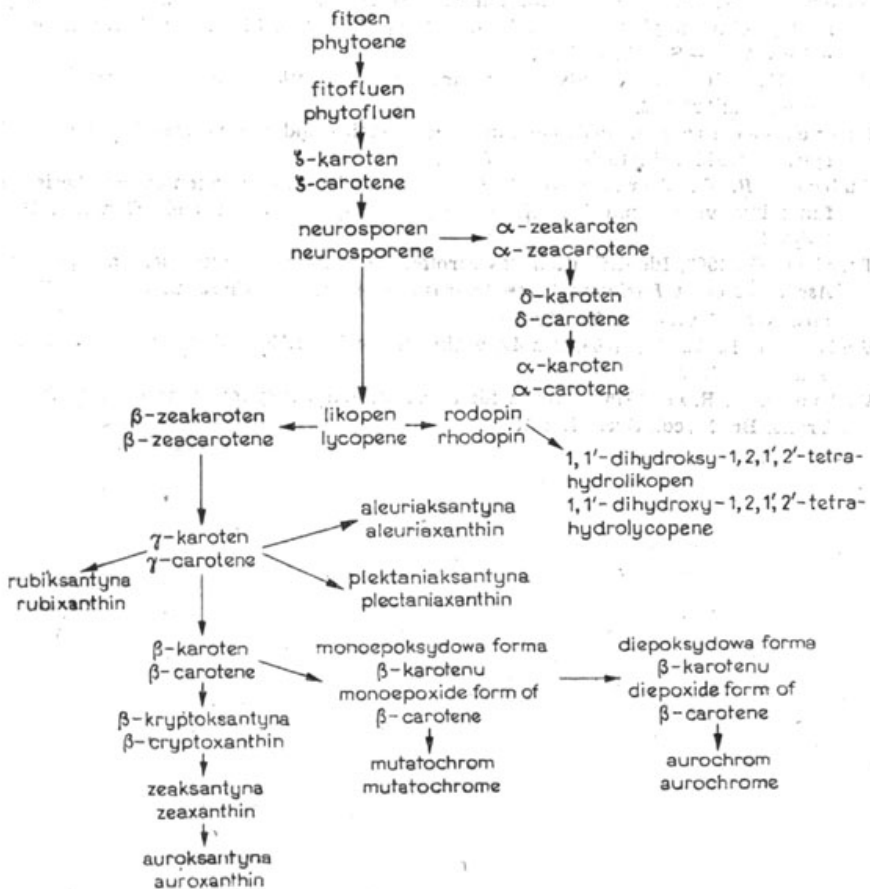
Jeśli chodzi o obecność 1,2,1',2'-tetrahydro-1,1'-dihydroksylikopenu, to karotenoid ten był dotychczas wykazywany u wielu gatunków grzybów kapeluszowych (Czeczuga 1976, 1978). Z kolei ester aleuriaksantyny wykazała Liaaen-Jensen (1965) w owocnikach *Aleuria aurantia*, gdzie należał do grupy dominujących karotenoidów. Ponadto u tego samego gatunku Valadon (1964) wykazał również obecność rubiksantyny. W naszym materiale rubiksantyna wystąpiła tylko w owocnikach *Calocera viscosa*. Na uwagę zasługuje stwierdzenie w badanym materiale obecności mutatochromu i jego pochodnej — mutatoksaantyny. Jak wiadomo są to pochodne  $\beta$ -karotenu (mutatochrom — 5,8-dihydro-5,8-epoksykaroten; mutatoksaantyna — 3,3'-dihydroksy-5,8-dihydro-5,8-epoksy- $\beta$ -karoten). Według Goodwina (1976) formy 5,8-epoksydowe  $\beta$ -karotenu mogą występować u grzybów jako produkty degradacji starych owocników, jak to miało miejsce między innymi w starej kulturze *Phycomyces blakesleanus*.

Wszystkie karotenoidy stwierdzone w owocnikach badanych gatunków grzybów należą do pochodnych trzech karotenoidów: likopenu,  $\beta$ -i  $\gamma$ -karotenu. Do grupy  $\beta$ -karotenopochodnych należą ksantofile: kantaksantyna,  $\beta$ -kryptoksantyna, mutatochrom, mutatoksaantyna, zeaksantyna oraz 3,4,4'-trihydroksy- $\beta$ -karoten. Pochodnymi  $\gamma$ -karotenu są: rubiksantyna oraz ester aleuriaksantyny. Do grupy likopenopochodnych należy rodopin, 5,6-dihydroksy-5,6-dihydroksylikopen oraz 1,2,1',2'-tetrahydro-1,1'-dihydroksylikopen.

O ile w owocnikach *Calocera viscosa* dominuje  $\beta$ -karoten i jego pochodne — (64,1%), to w strzępkach *Dacrymyces deliquescens*  $\beta$ -karoten i jego pochodne stanowią tylko 35,1%, wówczas gdy  $\gamma$ -karoten i jego pochodne wynoszą 38,8% wszystkich karotenoidów. Zarówno w owocnikach

jednego jak i drugiego gatunku badanych grzybów pochodne likopenu stanowiły zaledwie kilkanaście procent wszystkich karotenoidów.

Jeśli przyjąć zasadniczy schemat biosyntezy karotenoidów u grzybów wg Subdena i Turiana (1970) oraz Valadona (1976) (ryc. 1), to obecność w owocnikach badanych gatunków grzybów tych trzech karotenów lub większości ksantofili jako ich pochodnych staje się nam w pełni zrozumiała, albowiem leżą one na głównych szlakach biosyntezy i przemian tych karotenoidów u grzybów.



Ryc. 1. Proponowany schemat biosyntezy karotenoidów

Fig. 1. Proposed scheme of carotenoid biosynthesis

## LITERATURA

- Czeczuga B., 1974, Carotenoids in *Euglena rubida* Manix. Comp. Biochem. Physiol. 48 B: 349-354.
- Czeczuga B., 1976, Badania nad karotenoidami u grzybów. II. Rodzaj *Amanita*. Acta Mycol. 12: 265-272.
- Czeczuga B., 1978, Investigations on carotenoids in fungi. IV. Qual. Plant. — Pl. Fds, Hum. Nutr. 28: 37-43.
- Fiasson J.-L., Arpin N., 1967, Recherches chemiotaxinomiques sur les champignons. V. Fr. Bull. Soc. Chim. Biol. 49: 537-542.
- Goodwin T. W., 1955, Chemistry and biochemistry of plant pigments. Academic Press, New York and London.
- Goodwin T. W., 1976, Distribution of carotenoids. [In:] Chemistry and biochemistry of plant pigments pp. 225-261 1. pp. 870, 2, s. 373. Acad. Press, London —New York—San Francisco.
- Haxo F., 1950, Carotenoids of the mushroom *Cantharellus cinnabarinus*. Bot. Gazet. 112: 228-232.
- Liaaen-Jensen S., 1965, On fungal carotenoids and the natural distribution of spirilloxanthin. Phytochem. 4: 925-931.
- Subden R. E., Turian G., 1970, A mechanism for carotenoid synthesis in fungi involving a multifunctional enzyme complex. Molec. Gen. Genetics. 108: 358-364.
- Turian G., 1960, Identification des carotenoids majeurs de quelques champignons *Ascomycetes* et *Basidiomycetes* Neurosporene chez *Cantharellus infundibuliformis*. Arch. Mikrobiol. 36: 139-146.
- Valadon L. R. G., 1964, Rubixanthin in *Peziza (Aleuria) aurantia*. Biochem. Journ. 92: 19-20.
- Valadon L. R. G., 1976, Carotenoids as additional taxonomic characters in fungi. Trans. Br. Mycol. Soc. 67: 1-15.