PŘEDBĚŽNÉ ZHODNOCENÍ VARIABILITY FLAVONOIDŮ DVOU DRUHŮ RODU *ORTHOTRICHUM* (BRYOPHYTA)

Romana Petrželková[1]

[1]*Ostravská univerzita, Chittussiho 10, 710 00, Ostrava, romana.petrzelkova@centrum.cz*

Abstrakt

Byla provedena předběžná studie flavonoidů mechů *Orthotrichum speciosum* a *O. stramineum*, který potvrdila přítomnost flavonoidů v rodu *Orthotrichum*. V rámci jednotlivých druhů byly zjištěny pouze kvantitativní rozdíly, přestože u druhu *O. speciosum* byly posuzovány vzorky ze tří lokalit. Při srovnání obou druhů jsou patrné kvalitativní rozdíly.

Klíčová slova: *flavonoidy; Orthotrichum stramineum; Orthotrichum speciosum; mechorosty; saponarin*

Úvod

Flavonoidy jsou sekundární metabolity běžně se vyskytující v zelených rostlinách. Přestože jsou v cévnatých rostlinách všudypřítomné, pouze u 40 – 50% zkoumaných mechorostů byla zjištěna jejich přítomnost [1]. Hlavní předpokládanou funkcí flavonoidů je ochrana proti UV záření [2], která rostlinám umožnila přežití v suchozemském prostředí [1]. Kromě toho flavonoidy disponují účinky antibakteriálními [3], antifungálními [4], antivirálními [5], alelopatickými [6], antioxidačními [7], diuretickými a v neposlední řadě protizánětlivými [5].

Flavonoidy mechorostů jsou také zkoumány v souvislosti s fylogenetickými vztahy mezi taxony. Část variability v obsahu flavonoidů lze vysvětlit fylogenetickou historií taxonů, velký význam však má také konvergentní vývoj v podobných environmentálních podmínkách [2]. Bylo zjištěno mnoho faktorů ovlivňující chemické složení z kvalitativního či kvantitativního hlediska, například vývojové stádium [8], světelné podmínky [9], roční období, nadmořská výška [10] a vlhkost [11]. Rozdíly mohou být také mezi sporofytem a gametofytem [12] nebo jedinci různého pohlaví [10].

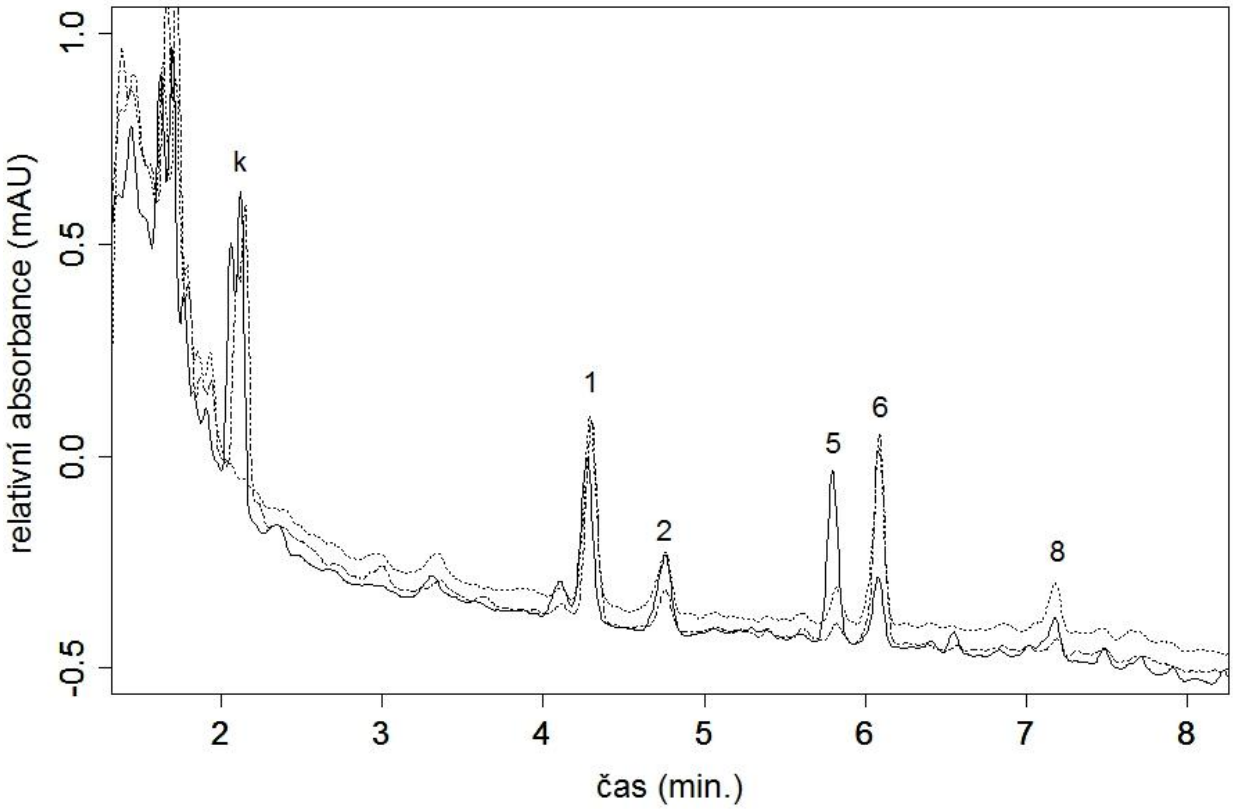
Cílem této předběžné analýzy je zhodnotit vnitrodruhovou variabilitu v obsahu flavonoidů obou druhů a mezidruhovou variabilitu mezi *Orthotrichum speciosum* a *O. stramineum*. Sawicki et al. [13] navrhují rozčlenění rodu *Orthotrichum* do více rodů, přičemž zde zkoumané druhy spadají do rozdílných skupin a je tedy očekávána velká mezidruhová variabilita.

Materiál a metody

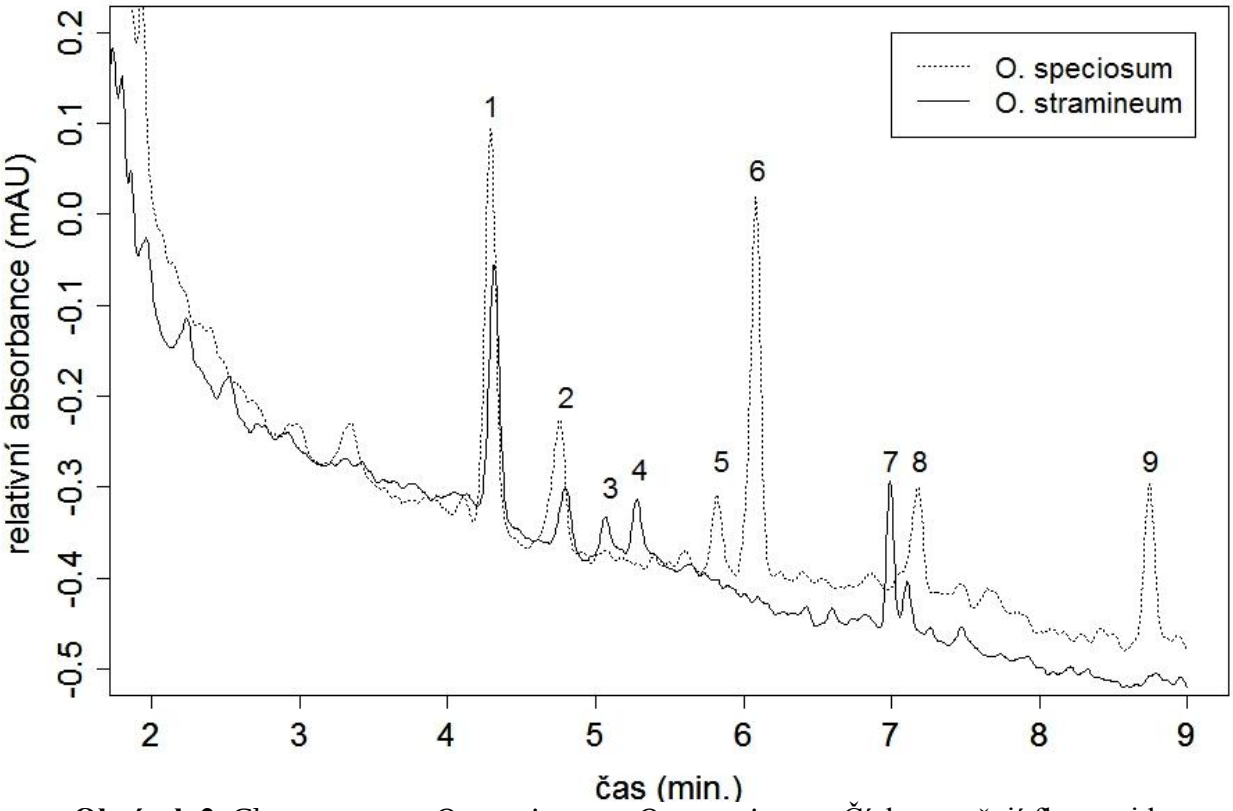
Pro analýzu byly použity druhy *Orthotrichum speciosum* a *O. stramineum*. Na přípravu jednoho vzorku bylo použito 0,2 g čerstvého rostlinného materiálu a 3ml extrakčního činidla, jímž byl 40% methanol. Vzorky byly připraveny dle návodu z práce Nezvala [14] a následně byla provedena HPLC analýza. Pro porovnání vzorků byl použit chromatogram získaný při 360nm. Kvůli nízkým koncentracím obsahových látek byl na chromatogramech detailně posuzován pouze úsek mezi druhou a devátou minutou. Flavonoidy nebyly identifikovány, ale srovnáním retenčního času a absorpčního spektra bylo zajištěno, že jsou napříč chromatogramy porovnávány tytéž látky. Flavonoidy jsou v chromatogramech a následně i v textu číslovány 1 – 9. Pro grafické zhodnocení byl využit program R.

Výsledky a diskuse

Vnitrodruhová variabilita *O. stramineum* byla posuzována na čtyřech vzorcích připravených z rostlinného materiálu pocházejícího z téže lokality. Překrytí chromatogramů



Obrázek 1. Chromatogramy *O. speciosum* ze tří různých lokalit. Čísla označují flavonoidy, písmeno „k“ označuje blíže neidentifikovanou fenolickou kyselinu



Obrázek 2. Chromatogram *O. speciosum* a *O. stramineum*. Čísla označují flavonoidy.

neukázalo kvalitativní ani kvantitativní rozdíly. Opačný výsledek by naznačoval existenci různých chemotypů v rámci zkoumaného druhu [15]. Podmínky prostředí, mající často vliv na chemické složení, by v případě jedinců rostoucích pospolu na ploše několika cm^2 neměly způsobovat vnitrodruhové rozdíly

Vnitrodruhová variabilita *O. speciosum* byla posuzována na vzorcích připravených z rostlinného materiálu ze tří různých lokalit, jejichž chromatogramy zobrazuje obrázek č. 1. Viditelné jsou pouze kvantitativní rozdíly, nejspíše způsobeny různými podmínkami prostředí. Na obsah flavonoidů mohou mít vliv některé složky slunečního záření a velkou roli tak může hrát zastínění lokality. V *in vitro* kulturách játrovky *Reboulia* sp. byly zjištěny kvalitativní změny v závislosti na charakteru osvětlení [9].

Za zmínku stojí fenolická kyselina zobrazená v druhé minutě chromatogramu, která u jednoho vzorku není přítomna, přestože u dalších dvou vzorků byla detekována. Vzhledem k tomu, že se jedná o tytéž druhy, rozdíl mohl být způsoben rozdílnými podmínkami prostředí, nebo rozdílným stářím použitých rostlin.

Mezidruhovou variabilitu v obsahu flavonoidů obou zkoumaných druhů zobrazuje obrázek č. 2. Flavonoidy 3, 4 a 7 byly zjištěny pouze u *O. stramineum*, kdežto flavonoidy 5, 6 a 9 pouze u *O. speciosum*. Vzhledem k nízkému obsahu látek v rostlinném materiálu nelze s jistotou tvrdit, že nedetekované látky se ve vzorku v minoritním množství nevyskytují. Pro potvrzení je nutné provést dodatečné analýzy se vzorky připravenými z většího množství rostlinného materiálu.

Flavonoidy byly ve vzorcích obsaženy ve velmi malém množství, které znemožnilo jejich přesnou identifikaci. Pouze flavonoid č. 5 byl na základě podobnosti absorpčního spektra identifikován jako saponarin, již dříve detekovaný v meších [3]. Saponarin byl v této práci zjištěn pouze v druhu *O. speciosum*, jeho absence v *O. stramineum* může souviset s malým množstvím rostlinného materiálu a potažmo také flavonoidů. Nedostatek rostlinného materiálu je běžným problémem chemického výzkumu většiny mechorostů, který lze částečně vyřešit pěstováním *in vitro* [16]. Na obsah flavonoidů může mít vliv také roční období a jejich množství se může zvyšovat v závislosti na UV záření, proti němuž dle některých autorů flavonoidy tvoří ochranný filtr [2]. V případě nízkého obsahu flavonoidů by pak mohlo být vhodné použít rostlinný materiál nasbíraný v jiném ročním období. Dalším řešením může být modifikace extrakčního postupu, případně využití jiné analytické metody.

Závěr

Tato práce potvrzuje přítomnost flavonoidů v meších rodu *Orthotrichum*. Vnitrodruhové rozdíly v obsahu flavonoidů jsou minimální, což umožňuje srovnání mezi druhy. Druhy *O. speciosum* a *O. stramineum* obsahují každý minimálně 3 různé flavonoidy nedetekované u druhého druhu. Zjištěné kvalitativní rozdíly obou druhů nejsou v rozporu s návrhem na rozčlenění současného rodu *Orthotrichum* na dva rody [13], pro potvrzení jsou však nutné další analýzy.

Poděkování

Za pomoc při zpracování tohoto příspěvku děkuji Mgr. Jakubu Nezvalovi a RNDr. Vítězslavu Pláškovi, Ph.D.

Literatura

[1.] MARKHAM, K. R. *Bryophyte Flavonoids, their Structures, Distribution, and Evolutionary Significance*. In Bryophytes, Their Chemistry and Chemical Taxonomy. Oxford: Clarendon Press, 1990.

[2.] HARRIS, E. S. J. *Phylogenetic and Environmental Lability of Flavonoids in a Medicinal Moss*. Biochemical Systematics and Ecology, 2009, roč. 37, č. 3, s. 180-192.
[3.] BASILE, A., GIORDANO, S., LÓPEZ-SÁEZ, J. A., CASTALDO COBIANCHI, R. *Antibacterial Activity of Pure Flavonoids Isolated from Mosses*. Phytochemistry, 1999, roč. 52, č. 8, s. 1479-1482.
[4.] MISHRA, R., VERMA, D. L. *Antifungal Activity and Flavonoid Composition of* Wiesnerella denudata *Steph.* Academia Arena, 2009, roč. 1, č. 6, s. 42-45.
[5.] XIAO, J., JIANG, X., CHEN, X. *Antibacterial, Anti-Inflammatory and Diuretic Effect of Flavonoids from* Marchantia convoluta. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 2005, roč. 2, č. 3, s. 244-252.
[6.] BASILE, A., SORBO, S., LÓPEZ-SÁEZ, J. A., CASTALDO COBIANCHI, R. *Effects of Seven Pure Flavonoids from Mosses on Germination and Growth of* Tortula muralis *HEDW. (Bryophyta) and* Raphanus sativus *L. (Magnoliophyta*). Phytochemistry, 2003, roč. 62, č. 7, s. 1145-1151.
[7.] MARKHAM, K. R., RYAN, K. G., BLOOR, S. J., MITCHELL, K. A. *An Increase in the Luteolin: Apigenin Ratio in* Marchantia polymorpha *on UV-B Enhancement.* Phytochemistry, 1998, roč. 48, č. 5, s. 791-794.
[8.] MARKHAM, K. R., NOREEN, A., MOORE, N. A., PORTER, L. J. *Changeover in Flavonoid Pattern Accompanying Reproductive Structure Formation in a Bryophyte***.** Phytochemistry, 1978, roč. 17, č. 5, s. 911-913.
[9.] MORAIS, R. M. S. C., BECKER, H. *Growth and Secondary Product Formation of in vitro Cultures from the Liverwort* Reboulia hemisphaerica. Zeitschrift für Naturforschung Section C, 1990, roč. 46, č. 1-2, s. 28-32.
[10.] ASAKAWA, Y. *Chemosystematics of the Hepaticae*. Phytochemistry, 2004, roč. 65, č. 6, s. 623-669.
[11.] MUES, R. *The Significance of Flavonoids for the Classification of Bryophyte Taxa at Different Taxonomic Rank*. In Bryophytes, Their Chemistry and Chemical Taxonomy. Oxford: Clarendon Press, 1990.
[12.] WYATT, R., LANE, D. M., STONEBURNER, A. *Chemosystematics of the Mniaceae. III. Sources of Intraspecific Variation in Flavonoids*. The Bryologist, 1991, roč. 94, č. 4, s. 452-456.
[13.] SAWICKI, J., PLÁŠEK, V., SZCZECIŃSKA, M. *Preliminary studies on the phylogeny of Orthotrichum (Bryophyta) inferred from nuclear ITS sequences*. Annales Botanici Fennici, 2009, roč.46, č. 46, s. 507-515.
[14.] NEZVAL, J. *Detekce a kvantifikace UV-absorbujících látek a fotosyntetických pigmentů u vyšších rostlin*. Diplomová práce. Ostravská univerzita. 2009.
[15.] WEBBY, R. F., MARKHAM, K. R., SMITH, R. I. L. *Chemotypes of the Antarctic moss Bryum algens Delineated by their Flavonoid Constituents*. Biochemical Systematics and Ecology, 1996, roč. 24, č. 5, s. 469-475.
[16.] GEIGER, H., SEEGER, T., ZINSMEISTER, H. D., FRAHM, J.-P. *The occurrence of Flavonoids in Arthrodontous Mosses – An Account of the Present Knowledge*. Journal of the Hattori Botanical Laboratory, 1997, roč. 83, s.273-308.

Abstract

A preliminary study of flavonoids of mosses *Orthotrichum speciosum* and *O. stramineum* has been carried out. This study has confirmed the presence of flavonoids in genus *Orthotrichum*. There were only qualitative differences within individual species although the material of *O. speciosum* was obtained from three localities. Comparison of both species reveals perceptible qualitative differences.