

УДК 582.29:615.322:(663.11+663.18)
DOI: 10.36305/0513-1634-2021-140-120-129

СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОВРЕМЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В БИОТЕХНОЛОГИИ ЛИШАЙНИКОВ КАК ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ

Елена Федоровна Семенова, Людмила Михайловна Теплицкая,
Михаил Анатольевич Гончаров, Даниил Анатольевич Гончаров

Медицинская академия им. С.И. Георгиевского
Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского
295000, РФ, Республика Крым, г. Симферополь, бульвар Ленина 5/7
E-mail: sef1957@mail.ru

На основании контент-анализа источников патентной и научной литературы о биотехнологии лишайников как лекарственного сырья приводятся систематизированные современные сведения, а также оригинальные экспериментальные данные, касающиеся культивирования в контролируемых условиях ботанических видов лишайников различных эколого-географических групп. Лишайники с древних времен применяются в качестве лекарственных средств и включены в фармакопеи различных стран. В настоящее время разработаны методические подходы к культивированию лишайников (роды *Usnea*, *Rhinocarpon*, *Umbilicaria*) и их компонентов: фикобионта (роды *Nostoc*, *Chlorella*), микобионта (*Petrusaria pertiza*, *Leydeia parasema*, *Alternaria sp.*). Также определены основные биологически активные соединения (усниновая кислота, лишайнин, цетрарин, водорастворимые витамины, щавелевокислый кальций) и вызываемые ими фармакологические эффекты (антимикробные, возбуждающие аппетит, обволакивающие, противовоспалительные, противоожоговые, регенерирующие). Биотехнологические подходы могут быть реализованы для клонирования видов, размножения, создания банка клеточных культур лишайников и их компонентов с целью сохранения хозяйственно ценных продуцентов в активном состоянии и разработки технологий получения биомассы и фармакологически ценных биологически активных соединений.

Ключевые слова: фармацевтическая биотехнология; состояние исследований; использование лишайников; биологически активные вещества; культивирование фикобионта и микобионта.

Введение

Лишайники - очень интересная и своеобразная группа низших растений, организм которых состоит из фикобионта (одноклеточной зеленой водоросли или цианобактерии) и микобионта (как правило, аскомицета, реже базидиомицета), образующих единый организм на основе симбиоза и, возможно, частичного паразитизма со стороны гриба [16]. Природное и хозяйственное значение этих биообъектов многообразно: кормовое (виды родов кладония, цетрария и др.), пищевое (гирофора съедобная, аспицилия съедобная), ароматическое (эверния сливовая), медицинское (цетрария исландская, виды рода уснея и др.) [11, 13].

Однако, лишайники – очень медленно растущие организмы (1-8 мм в год) и для восстановления сырьевой базы в естественных условиях произрастания требуется от 10 до 30 лет. Биотехнологические подходы могут быть реализованы для клонирования видов, размножения, создания банка клеточных культур лишайников и их компонентов с целью сохранения хозяйственно ценных продуцентов в активном состоянии и разработки технологий получения биомассы и фармакологически ценных биологически активных соединений. Поэтому актуальна разработка лишайнотехнологий в контролируемых условиях, позволяющих интенсифицировать биосинтетические процессы веществ, продуцируемых фико- и микобионтами. Целевые продукты таких технологий могут быть использованы в химико-фармацевтическом и парфюмерно-косметическом производствах, а также в производстве биологически активных добавок

к пище, в программах реабилитации определенных категорий граждан и здоровьесбережения населения России.

Цель исследований – анализ современных сведений, а также оригинальных экспериментальных данных, касающихся биотехнологических аспектов лекарственных видов лишайников.

Объект и методы исследования

Объектом изучения служили ботанические виды лишайников современных эколого-географических групп и занимающие различные ареалы.

В качестве основного метода исследования использован контент-анализ источников патентной и научной литературы. Также в данной работе систематизированы и приведены оригинальные результаты, полученные с применением морфологических, цитологических, биохимических, микробиологических, биотехнологических, математических методик исследований.

Результаты и обсуждение

Лишайники являются продуцентами органических метаболитов, многие из которых обладают биологической активностью, в частности, антимикробной в отношении стафилококков, стрептококков, туберкулезной палочки. Во многих случаях лишайники, благодаря особенностям своей химической природы, оказывали на больного положительное действие и как стимуляторы, поднимающие тонус организма, и как антибиотики. С середины XX века ведутся исследования разнообразных свойств лишайниковых кислот, были разработаны рецептуры соответствующих лекарственных препаратов: ewosyna, usniakin, usnin, usnimycena, usno, eihushin, sodul [10].

По современной классификации лишайники относятся к лекарственным растениям, содержащим простые фенолы C₆-C₁-ряда, оказывающие антисептическое, противоожоговое, регенерирующее действие [5]. В качестве лекарственного сырья для получения натриевой соли кислоты усниновой, имеющей флороглюциновую природу, используют собранные в течение года на почве или стволах различных деревьев и высушенные слоевища следующих видов лишайников: исландский мох (цетрария исландская, исландский лишайник) *Cetraria islandica* (L.) Ach., цетрария сворачивающаяся (ц. клубочковая) *C. cucullata* (Bell.) Ach., ц. снежная *C. nivalis* (L.) Ach., пармелия кочующая (п. блуждающая) *Parmelia vagans* Nyl. - сем. Пармелиевые *Parmeliaceae*; кладония звездчатая (к. альпийская или приальпийская) *Cladonia stellidris* (Opiz) Pouzaret Vezda = *C. alpestris* (L.) Rabenh., к. деревцеподобная (к. лесная) *C. arbusculata* (Wallr.) Flot. = *C. sylvatica* (L.) Hoffm., к. бесформенная *C. deformis* (L.) Hoffm. - сем. Кладониевые *Cladoniaceae*; уснея длиннейшая *Usnea longissima* Ach., у. бородатая *U. barbata* (L.) Weber ex F.H. Wigg. = *U. barbata* (L.) Wigg., у. цветущая (у. плодоносная) *U. florida* (L.) Weber ex F.H. Wigg. = *U. florida* (L.) G.H. Web., у. жесткая (у. мохнатая) *U. hirta* (L.) Weber ex F.H. Wigg. = *U. hirta* (L.) Hoffm., алектория бледно-охряная (бледно-желтая) *Alectoria ochroleuca* (Hoffm.) A. Massal. = *A. ochroleuca* (Ehrh.) Nyl., эверния мезоморфная (э. кустовидная) *Evernia mesomorpha* Nyl. = *E. thamnoides* (Flot.) Arn., э. несоредидозная *E. esorediosa* (Muell. Arg.) DuRietz., э. сливовая (лентец крупинчатый) *E. prunastri* Ach. - сем. Усневые *Usneaceae*. Качество сырья официальных видов лишайников в Российской Федерации регламентирует ФС 42-766-73, ГОСТ 13727-68, ГОСТ 21565-76.

Сырьем содержит полисахариды (около 50%), состоящие, в основном, из лишенина с молекулярной массой 10000-37000, при кислотном гидролизе которого образуется D-глюкоза. К сопутствующим веществам относятся горечи (цетрарин), аскорбиновая и фолиевая кислоты, минеральные соединения, в частности,

щавелевокислый кальций. Другие витамины продуцируются лишайниками (именно фикобионтами) в небольшом количестве: биотин (витамин Н), цианокобаламин (витамин В₁₂), никотиновая кислота (витамин В₅, или РР), пантотеновая кислота (витамин В₃), рибофлавин (витамин В₂), тиамин (витамин В₁). Поэтому сырье и извлечения из него применяют как возбуждающее аппетит, обволакивающее, противовоспалительное и гомеопатическое средство. Слоевища входят в состав грудных и желудочных сборов (чаев), биологически активных добавок к пище [6].

В последние 30 лет изучение культивирования лишайников в условиях *in vitro* проводится не только в России, но и за рубежом (Япония, Германия, Франция, Эстония и др.). Исследовали влияние условий культивирования на рост культуры тканей лишайников [14, 17, 21, 23, 24]. Талломы лишайников выращивали при 20°C в темноте на агаризованной среде. Ткани *Usnea longissima* увеличивали в 13 раз исходный вес через 12 недель культивирования на среде Лилии-Барнетта, включающей 2% маннитол, дрожжевой экстракт в присутствии Д-аспарагина. Обнаружены межвидовые различия лишайников в составе сахаров и аминокислот. Экзогенное введение в среду витаминов, фитогормонов и дериватов нуклеиновых кислот не ускорило рост тканей.

Также исследованию были подвергнуты некоторые антарктические лишайники, выращиваемые при низких температурах. При этом только у трех: *Rhinocarpon flavum*, *Umbilicaria aprina*, *U. decunata* удалось получить культуры тканей [17]. Фрагментарные сведения имеются в научной литературе по изучению влияния температуры на скорость роста лишайников в культуре *in vitro*. Для сравнения использовались *U. nachlinbergii*, *U. pennsylvanica* из Японии. Все лишайники, за исключением *U. aprina*, лучше росли при 15 °C и хуже при 5 °C. В то же время *U. aprina* лучше рос при 5 °C. Скорость роста *U. decassara* сходна со скоростью роста видов этого рода из Японии, хотя они встречаются в более теплых районах, чем Антарктика.

Большое значение в настоящее время имеют исследования, касающиеся культивирования фико – и микобионтов, как с целью ресинтеза исходного лишайника, так и получения хозяйственно ценных метаболитов [15, 21, 23, 24]. Во Франции изучалось развитие *in vitro* чистых культур микобионтов, в частности, *Petrusaria pertiza* из аско- и конидиеспор. На агаре таллом формировал многолопастные пузырьки, несущие конидии. Некоторые из нитей мицелия росли в сторону от пузырьков и инициировали определенные структуры. На солодовом агаре образовались лишь мицелиальные чехлики, на среде Лилии-Барнетта формировались пустотелые структуры. Лопастные молодых талломов *Leydeia parasema* развивали мицелий, трансформирующийся в таллом с концентрическими выростами. Культуры *Lobaria laetevirens*, *L. pulmonaria* дали мицелиальные чехлики, образующие таллом [21]. В Германии проводились лабораторные опыты по культивированию листоватых и кустистых лишайников и их компонентов. Исследовали возможность культивирования компонентов листоватых лишайников на неорганических средах с целью получить предпосылки для последующих опытов по ресинтезу и проследить ранние стадии лихенизации, которые не удалось идентифицировать в естественных условиях. Оба симбионта *Dermacaron niniatum* удалось выделить, культивируя на минеральных средах [24].

Осуществленный нами сравнительный анализ потенциальных фикобионтов: 73 культур цианобактерий и зеленых водорослей, относящихся к родам *Calothrix*, *Cylindrospermum*, *Anabaena*, *Nostoc*, *Spirulina*, *Chlorella* и др. показал, что количество синтезируемых летучих душистых веществ находится на уровне 3-8 мг/л культуральной жидкости. При этом показано, что в непрерывной культуре *Chlorella vulgaris*, *Nostoc punctiforme*, *Spirulina platensis*, накапливается большое количество

липидов (14,5-81,0 мг/г сухого вещества), значительную часть которых составляют парафины C_{14} - C_{30} [9, 7, 12]. Густые экстракты (резиноиды), биологически активные добавки к пище на основе одноклеточных водорослей можно использовать с лечебно-профилактической целью [8, 18, 22].

Проведена оценка токсичности фармацевтических продуктов: средняя летальная концентрация $LC_{50} = 3,86$ мг/мл; средняя эффективная концентрация $ЭК_{50} = 1,93$ мг/мл; $LC_{100} = 30,8$ мг/мл при экспозиции 48 часов, среднее время выживания $LT_{50} = 60$ мин. Это дает основание их считать относительно безопасными и не проявляющими острую токсичность в эксперименте [19, 20].

Наиболее распространенным для фиксации запахов парфюмерной подукции является резиноид «Дубовый мох», который получают из лишайника *Evernia prunastri* (Голубкова, Шапиро, 1987). Популяции данного вида в Крыму ограничены и массовые сборы этого растения серьезно подрывают природные запасы (рис. 1).

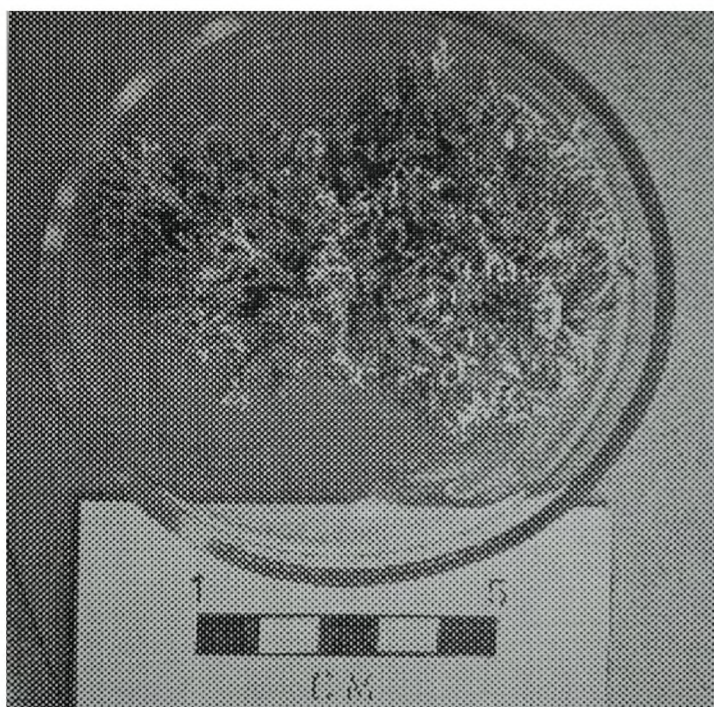


Рис. 1. Внешний вид лишайника *Evernia prunastri* (оригинальное фото)

Исследование морфологических особенностей компонентов, составляющих лишайник, проводилось на временных давленных препаратах, приготовленных из гонидиального слоя *Evernia prunastri*. Микроскопические исследования микобионта выявили значительную толщину клеточных стенок, достигающую 2 мкм у крупных клеток с общей толщиной гиф, равной 5 мкм. Отмечено также сильное утолщение гиф в местах расположения поперечных перегородок. Гифы, охватывающие клетки фикобионта, выглядят короткоклеточными (длиной 5-8 мкм). Средняя толщина гиф составила $3,2 \pm 0,2$ мкм, а средняя толщина клеточных стенок $1,0 \pm 0,3$ мкм. Длина клеток равнялась $49,5 \pm 7,8$ мкм. У микобионта встречаются тонкие гифы с толщиной 1,9 мкм и более толстые гифы, достигающие 4,8 мкм толщины. Воздушный мицелий вначале светлый, пушистый, на 2-5 сутки образует многоклеточные конидии обратно-булавовидной или продолговатой формы, придающее ему зеленовато-серую окраску. Стареющая культура (больше 40 суток) приобретает оливково-чёрную окраску. Иногда колония выпукло-плоская с сажисто-чёрной окраской.

Конидии располагаются цепочками на боковых ответвлениях гиф мицелия, цепочки конидий слабоветвящиеся. Конидиеносцы по внешним признакам ничем не отличаются от клеток мицелия. Количество конидий на конидиеносце от одной - двух до 15. На малом увеличении микроскопа они выглядят чёрными, при большем увеличении видна их буро-оливковая окраска. Конидии разделены 3-9 поперечными и одной или несколькими продольными перегородками на отдельные клетки. Новые конидии образуются на верхушках более старых, то есть имеют акропетальное нарастание. Поверхность конидий имеет мелкобугристую структуру. В благоприятных условиях они прорастают через 2-4 часа в новый мицелий. При приготовлении временных препаратов цепочки конидий легко распадаются на отдельные элементы. Измерение размеров конидий, разделённых 4-5 поперечными перегородками показало, что длина их равна $23,9 \pm 0,9$ мкм, а ширина - $8,0 \pm 0,5$ мкм.

Микобионт в культуре *in vitro* имеет клетки меньших размеров, по сравнению с клетками интактного таллома лишайника. Так, длина клеток равна $15,2 \pm 1,3$ мкм, а ширина $3,3 \pm 0,5$ мкм. Таким образом, при введении микобионта в условия *in vitro* происходят некоторые морфологические изменения: втрое уменьшается длина клеток, а ширина протопласта увеличивается в два раза, за счёт уменьшения толщины клеточной стенки.

Гистохимическими исследованиями в клетках изолированной культуры микобионта выявлен гликоген, жиры и эфирные масла. Опираясь на эти данные, можно с достаточной степенью уверенности говорить о том, что описанные структуры принадлежат микобионту лишайника *Evernia prunastri*. Было определено его систематическое положение и принадлежность к роду *Alternaria*, который очень широко распространен в природе: в почве, в морских водоёмах, в воздухе. Отдельные виды рода способны разлагать лигнин и промежуточные продукты его распада, а также пластмассы; некоторые виды способны паразитировать на паслёновых и крестоцветных, являясь факультативными паразитами [4].

Род *Alternaria* ранее был отнесён к формальному классу несовершенных грибов, так как не была известна форма полового размножения грибов этого рода. *Evernia prunastri* отнесена к классу сумчатых лишайников [1], то есть микобионт, входящий в симбиоз, принадлежит к сумчатым грибам. На основе наших исследований и систематического положения *Evernia prunastri* можно определить настоящее положение рода *Alternaria*, и отнести его к классу *Ascomycetes* [2].

В процессе культивирования изолированного микобионта были выделены два штамма с условными названиями "серый" и "красный". Их морфологические отличия проявляются в том, что "серый" штамм образует конидии, а "красный" - нет. "Серый" штамм на начальных этапах культивирования образует беловато-серый воздушный мицелий, на 3-5 день появляются конидии, придающие таллосу зеленоватый цвет, стареющая культура приобретает коричнево-чёрную окраску. "Красный" штамм на всём протяжении культивирования сохраняет розово-красную окраску, воздушного мицелия не образует.

Сравнительные исследования прироста биомассы "красного" и "серого" штаммов за 19 суток культивирования показали, что увеличение биомассы происходит различно. Так, "серый" штамм за 19 суток увеличивает свой вес с 0,2 мг до 490 мг, а "красный" - с 0,2 мг до 301 мг, то есть в 1,6 раза меньше. Однако "красный" штамм дает больший выход резиноида, чем "серый" за тот же период. Показано, что выход резиноида из "серого" штамма составляет 7,9%, а из "красного" - 15,6%. Таким образом, "красный" штамм является более перспективным для получения резиноида.

С целью оптимизации состава питательной среды для культивирования микобионта лишайника *Evernia prunastri* был проведен скрининг стандартных

питательных сред и их модификаций, полученных путем исключения наиболее редких и дорогостоящих компонентов. Исследовалось также влияние некоторых биологически активных веществ на прирост биомассы микобионта. Методом исключения из состава среды культивирования была проверена необходимость некоторых органических и минеральных компонентов питательной среды (таких как аденин, гидролизат казеина, мезоинозит, витамины, метионин, а также сульфат магния и железа) для роста культуры. Продолжительность культивирования во всех опытах составляла 19 суток, исходная масса инокулята - 0,2 мг АСВ (абсолютно сухого вещества). Результаты исследований приведены в таблице 1.

Таблица 1.

**Ростовые показатели микобионта на разных вариантах питательных сред
(на 19 сутки культивирования)**

Варианты питательных сред	Выход биомассы, мг АСВ/л	Прирост биомассы, мг АСВ/л	Ростовой индекс
Блэйдиза стандартная	199,3±7,5	199,2	996,0
Блэйдиза, MgSO ₄ - 0,2 мг/л FeSO ₄ - 0,2 мг/л	208,0±10,0	207,8	1039,0
Блэйдиза, метионин - 200 мг/л	206,0±4,3	205,8	1029,0
Мурасиге-Скуга стандартная	246,0±8,5	245,8	1229,0
Мурасиге-Скуга, метионин - 200 мг/л	267,0±8,8	266,8	1334,0
Мурасиге-Скуга, без гидролизата казеина	228,0±5,7	227,8	1139,0
Мурасиге-Скуга, без мезоинозита	217,0±9,2	216,8	1084,0
Мурасиге-Скуга без гидролизата казеина и мезоинозита	191,8±6,2	191,6	958,0
Мурасиге-Скуга без аденина	227,9±5,4	227,7	1138,5
Мурасиге-Скуга аденин - 0,8 мг/л	231,5±9,9	231,3	1156,5
Мурасиге-Скуга удвоенная концентрация витаминов	239,0±14,9	238,8	1194,0
Мурасиге-Скуга удвоенная концентрация сахарозы	294,3±4,5	294,1	1470,5

На основе выполненных экспериментов были выработаны некоторые рекомендации по упрощению и удешевлению питательной среды для культивирования микобионта в промышленных условиях: концентрацию MgSO₄ и FeSO₄ возможно уменьшить на один порядок, а мезоинозит и гидролизат казеина - вообще исключить из состава питательной среды. При этом, для аденина необходимо сделать экономический расчёт о целесообразности его использования в питательной среде. Исследование влияния температурного режима культивирования на прирост биомассы микобионта показало, что оптимальной является температура 16-20°C [12].

Для определения оптимального срока культивирования была построена кривая прироста биомассы микобионта. Измерения проводились через каждые 5 суток с определением абсолютно-сухого веса таллома и содержания влаги. Общее время культивирования составляло 30 суток (рис. 2).

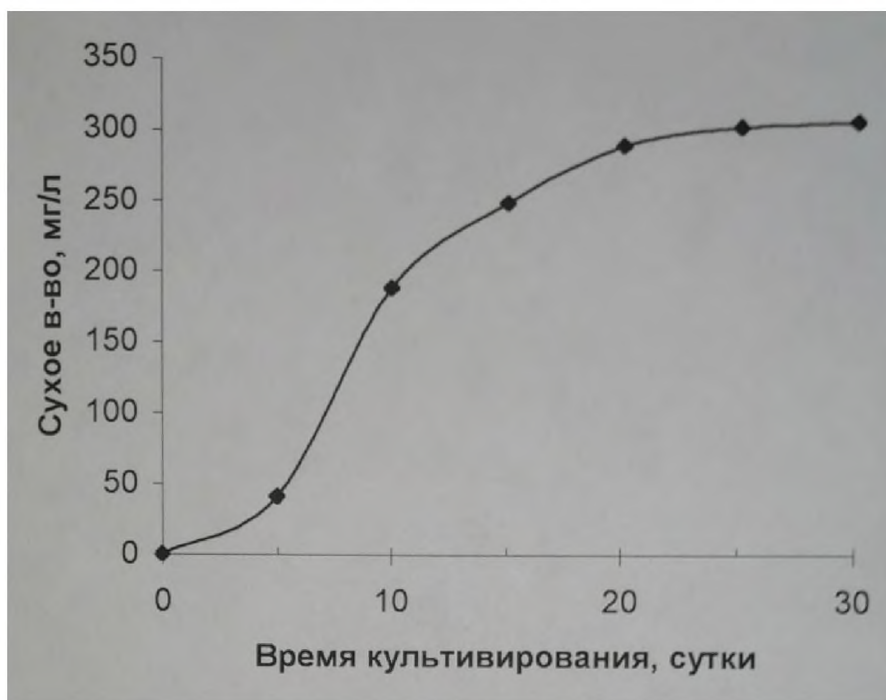


Рис. 2. Кривая роста микобионта лишайника *Evernia prunastri*

Данные исследования показали, что наибольший прирост биомассы наблюдается на 20 сутки (до 287,4 мг). В последующие 10 суток прирост культуры составил 16,3 мг (до 303,7 мг). Поэтому выращивание культуры более 20 суток является нецелесообразным.

Таким образом, при выращивании микобионта в культуре *in vitro* его следует культивировать не более 20 суток, при температуре 16-20°C, а из состава питательной среды возможно исключение дорогостоящих компонентов среды (мезоинозит, гидролизат казеина), а также значительного снижения количества $MgSO_4$ и $FeSO_4$ [9].

Резиноид, полученный из микобионта, выращенного в культуре *in vitro*, представляет собой широкий спектр спирторастворимых веществ. Методом газожидкостной хроматографии было показано наличие некоторых летучих соединений, суммарное содержание которых находилось в пределах от $7,0 \pm 0,3$ до $12,3 \pm 0,6\%$ (Митишев и др., 2014; Митишев и др., 2017). Методом тонкослойной хроматографии определена природа красного пигмента, содержащегося в культивируемом нами штамме микобионта – это родокладоновая кислота, которая является нафтохиноном. При органолептической оценке установлено, что резиноид, полученный из "красного" штамма, лишён недостатка, характерного для "серого" штамма – сильной грибной ноты (оценка проводилась в лаборатории биохимии Института эфиромасличных и лекарственных растений УААН, г. Симферополь).

Таким образом, в результате проведенных исследований выделен продуктивный штамм гриба из лишайника *Evernia prunastri* - источника резиноида. Разработан способ культивирования данного штамма и получения резиноида «Дубовый мох» (патент № 55873 Украины), который может найти применение в парфюмерно-косметической, фармацевтической и пищевой промышленности [9].

Выводы

Проведенный контент-анализ научных источников о лишайниках показал, что лекарственное значение этих биообъектов многообразно. Определены основные биологически активные соединения (усниновая кислота, лишайнин, цетрарин, водорастворимые витамины, щавелевокислый кальций) и вызываемые ими фармакологические эффекты (антимикробные, возбуждающие аппетит, обволакивающие, противовоспалительные). Лишайники с древних времен применяются в качестве лекарственных средств и включены в фармакопеи различных стран (ГФ РФ, БТФ и др.). Поэтому актуальна разработка лихенотехнологий в контролируемых условиях. В настоящее время разработаны методические подходы к культивированию лишайников (роды *Usnea*, *Rhinocarpon*, *Umbilicaria*) и их компонентов: фикобионта (роды *Nostoc*, *Chlorella*), микобионта (*Petrusaria pertiza*, *Leydea parasema*, *Alternaria sp.*). Они могут быть реализованы для клонирования лекарственных видов, размножения, создания банка клеточных культур лишайников и их компонентов с целью поддержания продуцентов в активном состоянии и интенсификации технологий получения ценных биологически активных веществ. Биотехнологические приемы *in vitro* стали во многих странах важной составляющей стратегии сохранения генофонда и рационального использования растительных ресурсов (Vasudeo, Lew, 2012). Особенно важны для промышленного производства разработанные в Крыму (2003-2014 гг.) и России (2012-2019 гг.) инновационные биотехнологии получения резиноидов на основе культур одноклеточных водорослей, в частности, хлореллы и сумчатых грибов, в частности, альтернарии.

Список литературы

1. Гарибова Л.В., Дундин Ю.К., Коняева Т.Ф., Филин В.Р. Водоросли, лишайники и мохообразные СССР. М.: Мысль, 1978. – С. 142-143.
2. Гарибова Л.В., Лекомцева С.Н. Основы микологии: морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2005. – 220 с.
3. Голубкова Н.С., Шатило М.А. Хемотаксономическое изучение рода *Evernia* Ach. Советского Союза // Новости систематики низших растений, 1987. – Т. 24. – С. 144-151.
4. Жизнь растений. В 6-ти т. Гл. ред. чл.-кор. АН СССР, проф. Ал. А. Федоров. Т. 3. Водоросли. Лишайники. Под ред. проф. М. М. Голлербаха. М.: "Просвещение", 1977. - С. 429-431, 470.
5. Куркин В.А. Фармакогнозия. Самара: ООО «Офорт»; ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2007. – 1239 с.
6. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения. Фармакогнозия. /под ред. Г.П. Яковлева. – СПб.: СпецЛит, 2006. – 845 с.
7. Митишев А.В., Преснякова Е.В., Семенова Е.Ф., Гурина М.А. Сравнительный анализ штаммов продуцента и инновационного продукта как основных элементов биотехнологии резиноида хлореллы // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Серия «Естественные науки», 2014. – № 4 (8). – С.19-29. – [Электронный ресурс] – URL: http://izvuz_est.pnzgu.ru/en2414
8. Митишев А.В., Семенова Е.Ф., Преснякова Е.В. К вопросу разработки технологии культивирования и переработки *Chlorella vulgaris* для получения резиноида // Вестник Воронежского университета. Серия «Химия. Биология. Фармация», 2017. - № 4. – С. 60-63. – [Электронный ресурс] – URL: http://www.vestnik.vsu.ru/content/chembio/2017/04/toc_ru.asp

9. Патент 55873. Способ получения резиноида «дубовый мох» методом культивирования «in vitro» / Теплицкая Л.М. (Украина) // Бюллетень, 2003. - № 4.
10. Сафонова М.Ю. Фармакогностическое и фармакологическое изучение слоевищ цетрарии исландской *Cetraria islandica* (L.) Ach.: автореф. дис. канд. фарм. наук (15.00.02, 14.00.25). – СПб., 2002. – 27 с.
11. Семенова Е.Ф., Гаврилова Е.Н., Преснякова Е.В. Фармацевтический словарь-справочник по биотехнологии. – Пенза: Изд-во ПГУ, 2014. – 147 с.
12. Теплицкая Л.М., Семенова Е.Ф. Биотехнология получения резиноида из клеточных культур *Evernia prunastri* // Материалы III Международной научно-практической конференции «Современные проблемы отечественной медико-биологической и фармацевтической промышленности», Пенза, 21 ноября 2014 г. – Пенза: ИИЦ ПГУ, 2014. – С. 160-173.
13. Aftab A., Rizwana K., Shamsul H., Niyaz A., Pramod K. S. Chapter 9. Biotechnological Applications of Lichen // Lichen-Derived Products: Extraction and Applications / Editor Mohd Y. / Scrivener Publishing LLC, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119593249.ch9>
14. Alexeeva N. Lichens from islands in the Russian part of the Gulf of Finland / N. Alexeeva // Folia Cryptogamica Estonica Fasc., 2005. - № 41. - P. 5-13.
15. Grimm M., Grube M., Schiefelbein U., Zühlke D., Bernhard J., Riedel K. The Lichens' Microbiota, Still a Mystery? // Front. Microbiol., 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.623839>
16. Lobakova E.S., Smirnov I.A. Experimental Lichenology, 2012. doi: 10/5772/30538 – [Электронный ресурс] – URL: <https://www.intechopen.com/books/advances-in-applied-biotechnology/experimental-lichenology>
17. Martin L., Randlane T., Martin J. Lichens of Vormsi Island // Folia Cryptogamica Estonica Fasc., 2000. – № 36. – P. 65-83.
18. Mitishev A., Semenova E., Presnyakova V., Presnyakova E., Kolesnikova S., Moiseeva I., Goncharov M., Moiseev Y., Presnyakov S. Nephelometric method for determination of growth parameters of chlorella culture // Article of the conference "Breakthrough directions of Scientific Research at MEPhI: Development prospects within the Strategic Academic Units. -Dubai, UAE; Knowledge E, 2018. – P. 206–212. – [Электронный ресурс] – URL: <https://www.knepublishing.com/index.php/KnE-Engineering/article/view/2994/6374>
19. Mitishev A.V., Semenova E.F., Moiseeva I.Ya. Definition of the toxicity of thick chlorella extract // Pharmaceutical Journal, 2019. - №1. – P. 98-102.
20. Mitishev A.V., Semenova E.F., Velichko V.P., Shpichka A.I., Moiseeva I.Y. Determination of the biological activity of chlorella resinoids in regard to *Paramecium caudatum*// International Research Journal, 2016. - № 4 (46), Part 5. – С.23-27. DOI: 10.18454/IRJ.2016.46.288
21. Raab T.K., Martin M.C. Visualizing rhizosphere chemistry of legumes with mid-infrared synchrotron radiation // Planta, 2001. – Vol. 213, No 5. – P. 881–887.
22. Semenova E. F., Shpichka A. I., Moiseeva I. Yu. On biotechnology of essential oils based on microbial synthesis // European Journal of Natural History, 2012. – No. 4 – P. 29-31.
23. Suzuki M.T., Parrot D., Berg G., Grube M., Tomasi S. Lichens as natural sources of biotechnologically relevant bacteria // Appl. Microbiol. Biotechnol., 2016. – Vol. 100 (2). - P. 583-595. DOI: 10.1007/s00253-015-7114-z
24. Upreti D. K., Divakar P. K., Shukla V., Bajpai R. (Ed.) Modern Methods and Approaches in Lichen Systematics and Culture Techniques // Recent Advances in Lichenology. Springer, 2015. – Vol. 2. – 123 p. DOI: 10.1007 / 978-81-322-2235-4

25. Vasudeo P. Z. & Lew P. C. Biopharmaceutical potential of lichens // Pharmaceutical Biology, 2012. – Vol. 50, Issue 6. – P. 778-798. DOI: <https://doi.org/10.3109/13880209.2011.633089>

Статья поступила в редакцию 07.06.2021

Semyonova E.F., Teplitskaya L.M., Goncharov M.A., Goncharov D.A. State and prospects of modern research in biotechnology of lichens as a medicinal raw material // Bull. of the State Nikit. Botan. Gard. – 2021. – № 140. - P. 120-129

Based on the content analysis of the sources of patent and scientific literature on the biotechnology of lichens as a medicinal raw material, systematized modern information is provided, as well as original experimental data regarding the cultivation of botanical species of lichens of various ecological and geographical groups under controlled conditions. Since ancient times, lichens have been used as medicines and are included in the pharmacopoeias of various countries. At present, methodological approaches have been developed for the cultivation of lichens (genera *Usnea*, *Rhinocarpon*, *Umbilicaria*) and their components: phycobiont (genera *Nostoc*, *Chlorella*), mycobiont (*Petrusaria pertiza*, *Leydea parasema*, *Alternaria* sp.). The main biologically active compounds (usnic acid, lichenin, cetrarin, water-soluble vitamins, calcium oxalate) and the pharmacological effects caused by them (antimicrobial, stimulating appetite, enveloping, anti-inflammatory, anti-burn, regenerating). Biotechnological approaches can be implemented for species cloning, reproduction, creation of a bank of cell cultures of lichens and their components in order to preserve economically valuable producers in an active state and develop technologies for obtaining biomass and pharmacologically valuable biologically active compounds.

Key words: *pharmaceutical biotechnology; state of research; the use of lichens; biologically active substances; cultivation of phycobiont and mycobiont*