УДК 582.29: 58.02: 576.08
DOI: 10.7868/S3034606126020088

ПОНИМАНИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ НАКОПЛЕНИЯ КАДМИЯ В ТАЛЛОМАХ ЛИШАЙНИКОВ *EVERNIA PRUNASTRI* И *PSEUDEVERNIA FURFURACEA*

А. Г. Даминова[1, *], Е. И. Галеева[1], Р. П. Бекетт [1], Ф. В. Минибаева[1, 2]

[1] Казанский институт биохимии и биофизики — обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук» Казань, 420111, Российская Федерация

[2] Казанский федеральный университет, Казань, 420008, Российская Федерация

** E-mail: daminova.ag@gmail.com*

Аннотация. **Обоснование и цель.** Среди тяжелых металлов кадмий считается особенно токсичным для различных видов лишайников ввиду его высокой растворимости в воде и аккумуляции из атмосферы и окружающих субстратов. Цель настоящего исследования заключалась в сравнительном анализе локализации, количественного содержания внутри- и экстраклеточного кадмия, наномеханических свойств талломов близкородственных видов лишайников *Evernia prunastri* (L.) Ach. и *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf из семейства пармелиевых после воздействия на них кадмием. **Методика.** Визуализацию локализации кадмия осуществляли методом сканирующей электронной микроскопии с помощью энергодисперсионного рентгеновского детектора (EDX), количественное содержание внутри- и экстраклеточного кадмия — методом атомно-абсорбционной спектрометрии, топографию таллома анализировали с помощью атомно-силовой микроскопии. **Результаты.** Показано, что внутри талломов *E. prunastri* и *P. furfuracea* кадмий преимущественно локализуется в межгифовом пространстве медуллярной зоны. Количественное содержание как экстра-, так и внутриклеточного кадмия в талломах лишайника *E. prunastri* значительно выше, чем у лишайника *P. furfuracea*. При воздействии кадмием изменялись наномеханические свойства поверхности кортекса, в том числе параметры адгезии и жесткости. **Заключение.** Кадмий накапливается в лишайниках *E. prunastri* и *P. furfuracea* и изменяет наномеханические свойства кортекса, что может быть опосредовано образованием сложных ассоциатов кадмия с вторичными метаболитами лишайников.

Ключевые слова: кадмий, лишайники, локализация, морфология, наномеханические свойства, тяжелые металлы, элементный анализ

Принятые сокращения: ААС — атомно-абсорбционная спектрометрия; АСМ — атомно-силовая микроскопия; СЭМ –сканирующая электронная микроскопия; ТМ — тяжелые металлы.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 25-14-00152).

Соблюдение этических стандартов. Экспериментов с участием животных или людей авторы не проводили.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Авторы благодарны междисциплинарному центру «Аналитическая микроскопия» КФУ и спектро-аналитическому центру (ЦКП-САЦ) Казанского научного центра РАН за использование оборудования. Работа выполнена в рамках государственного задания Федерального исследовательского центра Казанского научного центра Российской академии наук.

Ссылка для цитирования: Даминова А. Г., Галеева Е. И., Бекетт Р. П., Минибаева Ф. В. Понимание закономерностей накопления кадмия в талломах лишайников *Evernia prunastri* и *Pseudevernia furfuracea*. *Цитология / Cell and Tissue Biology*. 2026. Т. 68. № 2. С. 191—200. https://doi.org/10.7868/S3034606126020088

Поступила в редакцию 03.03.2026
После доработки 29.04.2026
Принята к публикации 04.05.2026

© Даминова А. Г., Галеева Е. И., Бекетт Р. П., Минибаева Ф. В., 2026

DOI: 10.7868/S3034606126020088

Understanding of the Patterns of Cadmium Accumulation in the Thalli of the Lichens *Evernia prunastri* and *Pseudevernia furfuracea*

A. G. Daminova[1, *], E. I. Galeeva[1], R. P. Beckett[1], F. V. Minibayeva[1, 2]

[1] *Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics – a separate structural division of the Federal Research Center "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences", Kazan, 420111, Russian Federation*

[b] *Kazan Federal University, Kazan, 420008, Russian Federation*

* *E-mail: daminova.ag@gmail.com*

Abstract. **Objective:** Among heavy metals, cadmium is particularly toxic to various lichen species due to its high water solubility and accumulation from the atmosphere and surrounding substrates. The aim of this study was to compare the localization, quantitative amount of intra- and extracellular cadmium, and nanomechanical properties of the thalli of closely related lichen species *Evernia prunastri* (L.) Ach. and *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf from the family Parmeliaceae after exposure to cadmium. **Methods:** Visualization of cadmium localization was performed using scanning electron microscopy coupled to energy-dispersive X-ray detector (EDX), the quantitative amount of intra- and extracellular cadmium determined using atomic absorption spectrometry, and thallus topography analyzed using atomic force microscopy. **Results:** Within the thalli of *E. prunastri* and *P. furfuracea*, cadmium was shown to be localized predominantly in the interhyphal space of the medullary zone. Extra- and intracellular uptake of cadmium by thalli of the lichen *E. prunastri* was significantly higher than that by *P. furfuracea*. Exposure to cadmium altered the nanomechanical properties of the cortex surface, including adhesion and rigidity parameters. **Conclusion:** Cadmium accumulates in the lichens *E. prunastri* and *P. furfuracea* and changes the nanomechanical properties of the cortex, which may be mediated by the formation of complex associates of cadmium with secondary metabolites of lichens.

Keywords: cadmium, elemental analysis, heavy metals, lichens, localization, morphology, nanomechanical properties

Funding. This work was supported by the Russian Scientific Foundation (project ID: 25-14-00152).

Ethics approval and consent to participate. This work does not contain any studies involving human and animal subjects.

Conflict of interest. The authors of this work declare that they have no conflicts of interest.

Acknowledgments. The authors thank the Interdisciplinary Center for Analytical Microscopy of Kazan Federal University and the Collective Spectro-Analytical Center for Physicochemical Studies of the Structure, Properties, and Composition of Substances and Materials (CKP-SAC) of FRC Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences for the use of equipment. This work was partially performed within the framework of the state assignment of the Federal Research Center Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences.

For citation: Daminova A. G., Galeeva E. I., Beckett R P., Minibayeva F. V. Understanding of the patterns of cadmium accumulation in the thalli of the lichens *Evernia prunastri* and *Pseudevernia furfuracea*. *Tsitologiya / Cell and Tiss. Biol.* 2026. V. 68. No. 2. P. 191—200. https://doi.org/10.7868/S3034606126020088

Received March 3, 2026
Revised April 29, 2026
Accepted May 4, 2026

© Daminova A. G., Galeeva E. I., Beckett R P., Minibayeva F. V., 2026

Интенсивная урбанизация, индустриализация и интенсификация сельского хозяйства, наряду с природными явлениями, являются серьезными причинами загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами (ТМ) и ухудшения экологической ситуации. Высокие уровни ТМ в окружающей среде могут представлять опасность для живых организмов по всей трофической цепи, что негативно влияет на сохранение биоразнообразия (Gall et al., 2015; Suhani et al., 2021). Лишайники, в отличие от большинства представителей растительного мира, обладают уникальными способностями выживать в самых неблагоприятных условиях среды и доминируют на больших участках наземных экосистем с суровым климатом (Seppelt, 2007).

Благодаря разнообразным механизмам устойчивости лишайники успешно выживают в загрязненных ТМ местах обитания. Накопление металлов в лишайниках — это сложный процесс, на который влияют морфология лишайника и физиологические процессы, происходящие внутри таллома (Tosic et al., 2022). Таллом лишайников представляет собой симбиотическую систему, сформированную преимущественно микобионтом (грибным партнером, в основном аскомицетами) и фотобионтом (водорослью и/или цианобактериями) (Eisenreich et al., 2011). У лишайников отсутствуют корни и устьица, структура их таллома облегчает прямое поглощение газов, воды, питательных веществ и загрязняющих веществ из атмосферы и субстратов (Bargagli, 2016).

Лишайники широко признаны биоиндикаторами загрязнения окружающей среды из-за их чувствительности к различным загрязнителям, включая ТМ. Изменения в популяциях лишайников, обусловленные негативным влиянием ТМ на их рост, развитие и размножение, могут быть ранним предупреждающим признаком экологических проблем. Лишайники из загрязненных металлами мест обитания демонстрировали аномалии роста, имели более плотные ризины, обильно разветвленные жилки, гипертрофированную сердцевину и повышенное обесцвечивание талломов (Bačkor, Loppi, 2009; Mikhailova, Kshnyasev, 2012). Влияние ТМ на репродуктивные структуры лишайников проявляется деформацией и снижением образования апотециев, которые участвуют в половом размножении, снижением образования соредий и увеличением бесполого размножения конидиями (Nash, Gries, 1995).

Лишайники могут накапливать и удерживать ТМ на поверхности талломов или внутри корового слоя в количествах, значительно превышающих их физиологические потребности. Мелкие частицы металлов иммобилизуются не только компонентами клеточной стенки микобионта, но и в межклеточных пространствах сердцевины (медуллы) в течение длительного времени. Основными процессами поддержания гомеостаза металлов в лишайниках являются процессы связывания с клеточной стенкой и переноса ТМ через мембраны, их хелатирование и секвестрация (Branquinho, 2001). Поглощение ионов металлов (катионов) в лишайниках происходит посредством быстрого пассивного процесса, в ходе которого они обратимо связываются с анионными участками вторичных метаболитов, способных действовать *in vitro* как хелаторы катионов, включая ТМ (Bačkor, Loppi, 2009).

Среди защитных механизмов лишайников к действию ТМ особую роль играют вторичные метаболиты, которые могут образовывать комплексы с металлами, хелатировать и секретировать их внеклеточно, а также проявлять антиоксидантную активность (Bačkor, Loppi, 2009). При загрязнениях ТМ показано повышение в медуллярной зоне содержания вторичных метаболитов, таких как леканоровая кислота у *Hypocenomyce scalaris* (Ach.) M. Choisy и фумарпротоцетрариновая кислота у *Cladonia furcata* (Huds.) Baumg. (Pawlik-Skowrońska, Bačkor, 2011). Было обнаружено (Białońska, Dayan, 2005), что содержание атранорина (соединения, локализованного в кортексе), физоидовой и гидроксифизоидовой кислот (локализованных в медуллярной зоне) снижалось, в то время как уровень физодаловой кислоты повышался после помещения талломов *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. в загрязненную промышленную область. Кроме того, металлы могут взаимодействовать с органическими кислотами, кристаллами оксалата, полисахаридами и пигментами меланина (Osyczka, Rola, 2019).

Известно, что вторичные метаболиты лишайников обладают антимикробным и ларвицидным действием, могут защищать талломы от сильного ультрафиолетового излучения и окислительного стресса (Goga et al., 2020). Лишайниковые метаболиты также могут играть важную роль в гомеостазе металлов и устойчивости лишайников к загрязнению (Molnár, Farkas, 2010). Несмотря на наличие в литературе информации о накоплении ТМ в талломах лишайников, уникальные механизмы устойчивости лишайников, в том числе обусловленные наличием вторичных метаболитов, остаются практически не изученными. Среди тяжелых металлов кадмий считается особенно токсичным для различных видов лишайников, ввиду его высокой растворимости в воде и аккумуляции из атмосферы и окружающих субстратов (Sanità di Toppi et al., 2005b; Maslać et al., 2016).

Для исследования в нашей работе использованы виды лишайников семейства пармелиевые (Parmeliaceae) — *E. prunastri* (L.) Ach. и *P. furfuracea* (L.) Zopf. Вид *E. prunastri* представляет собой кустистый лишайник с верхней поверхностью лопастей серовато-зеленого цвета и с более светло окрашенной, беловатой нижней частью («бледные» талломы). *P. furfuracea* также представляет собой кустистый лишайник со светлой верхней поверхностью лопастей, но обладающий конститутивным меланином на нижней поверхности, что придает темную окраску нижнему коровому слою талломов (меланин-содержащие талломы). Цель работы — сравнительный анализ локализации, количественного содержания внутри- и экстраклеточного кадмия, а также наномеханических свойств талломов лишайников *E. prunastri* и *P. furfuracea* после воздействия на них катионами кадмия.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Сбор материала. Талломы эпифитных лишайников *Evernia prunastri* и *Pseudevernia furfuracea* были собраны (около 5 г сухого веса) со стволов осин (29 деревьев на высоте 1.5—2 м), произрастающих в смешанных лесных массивах республики Марий Эл (широта 56.151775, долгота 48.425164). Материал очищали от загрязнений, медленно высушивали при комнатной температуре при относительной влажности 60—70% и далее хранили при температуре –20 °C. Перед началом экспериментов талломы лишайника гидратировали на влажной фильтровальной бумаге при температуре 10 °C в течение 24 ч.

Воздействие кадмия на талломы лишайников. Диски талломов лишайников *E. prunastri* и *P. furfuracea* диаметром 1 см инкубировали в 100 мкМ $CdCl_2$ в течение 1 ч. Далее образцы промывали несколько раз дистиллированной водой. В качестве контрольных образцов использовали талломы лишайников, инкубированные в дистиллированной воде.

Визуализация локализации кадмия методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Для анализа морфологии талломов и визуализации локализации кадмия были получены поперечные срезы лишайников *E. prunastri* и *P. furfuracea* толщиной 100 мкм с помощью вибратома Leica VT 1000S (Leica, Германия). Срезы фиксировали в 1%-ном и далее в 2.5%-ном глутаровом альдегиде (приготовленном на 0.1 М Na-фосфатном буфере pH 7.4) в течение 24 ч. После обезвоживания в серии разведений этанолового спирта срезы помещали в абсолютный спирт на 30 мин. Морфологию структурированной поверхности талломов лишайника после напыления золота (высоковакуумная напылительная система Q150T ES; Quorum Technologies, Вликобритания) визуализировали с помощью СЭМ (микроскоп высокого разрешения Merlin, Германия) при ускоряющем напряжении 5 кВ. Элементный состав образцов талломов определяли с помощью энергодисперсионного рентгеновского детектора (EDX) AZtec X-max (Oxford Instruments, Оксфорд, Великобритания), установленного на микроскопе Merlin, при ускоряющем напряжении 20 кВ.

Поглощение и количественное определение внутри- и экстраклеточного содержания кадмия методом атомно-абсорбционной спектрометрии (ААС). Для количественного определения содержания кадмия в талломах лишайников *E. prunastri* и *P. furfuracea* использовали фрагменты талломов с общим сухим весом 20—30 мг. Определение внутри- и экстраклеточного поглощения кадмия проводили по описанному методу (Beckett, Brown, 1984). Фрагменты талломов промывали в дистиллированной воде MQ. Далее образцы инкубировали в 500 мл раствора $CdCl_2$ (0.01, 0.015, 0.03, 0.1 мкМ) на шейкере (ELMI S-4, Латвия) в течение 1 ч, затем инкубировали в 10 мл воды MQ в течение 20 мин. Вытеснение катионов кадмия, связанных с клеточной стенкой грибных гиф талломов лишайников, осуществляли с помощью $NiCl_2$. Талломы инкубировали в 10 мл 20 мМ раствора $NiCl_2$ в течение 30 мин (раствор 1) для анализа содержания экстраклеточного кадмия. После инкубации в 10 мл воды MQ в течение 20 мин талломы лишайников высушивали при температуре 80 °C в течение 6 ч для определения сухой массы. Сухие талломы выдерживали в 10 мл 1 М азотной кислоты (раствор 2) в течение 30 мин для определения содержания внутриклеточного кадмия. Измерения содержания вне- и внутриклеточного кадмия проводили с помощью атомно-абсорбционного спектрометра МГ А-1000 (ООО «Атомприбор», Россия). Содержание металла рассчитывали в мкмоль на 1 г сухой массы талломов лишайников. Значения K_m (константа Михаэлиса) и V_{max} (максимальная скорость) вне- и внутриклеточного поглощения кадмия были рассчитаны по известным формулам (Wilkinson, 1961).

Анализ топографии таллома методом атомно-силовой микроскопии (АСМ). Талломы лишайников *E. prunastri* и *P. furfuracea* фиксировали в 2.5%-ном глутаровом альдегиде, постфиксировали в тетроксиде осмия (Sigma, США), обезвоживали в этаноловом спирте возрастающей концентрации (от 30 до 96) и ацетоне. Образцы полимеризовали в смоле LR White (Sigma, США) при 60 °C в течение 24 ч, верхнюю поверхность образцов выравнивали с помощью алмазного ножа. Кортексы талломов лишайников на срезе визуализировали с помощью микроскопа Bruker Dimension FastScan (Bruker, США) в режиме PeakForceQNM с кантиливерами ScanAsyst-Air (Bruker, США). Наномеханические свойства поверхности талломов проанализированы путем измерения параметров адгезии (нН) и жесткости (нм). Параметр адгезии в АСМ — это количественная характеристика силы сцепления между зондом (иглой) микроскопа и исследуемой поверхностью, определяемая методом АСМ. Параметр жесткости определяется способностью зонда микроскопа сопротивляться изгибу при взаимодействии с поверхностью образца. В отличие от макроскопических методов, АСМ позволяет измерять силу взаимодействия на наноуровне. Изображения получены с разрешением 512 строк на сканирование.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Использование потенциала и возможностей адаптации экстремофильных организмов, таких как лишайники, к стрессовым условиям, обусловленным повышенным содержанием ТМ, является актуальным и целесообразным. В представленной работе лишайники семейства Parmeliaceae *E. prunastri* и *P. furfuracea* были подвергнуты воздействию кадмия, одного из особенно токсичных ТМ для лишайников, вызывающего негативные физиологические изменения (Sanità di Toppi et al., 2005b).

Микроструктура поперечных срезов талломов лишайников *E. prunastri* и *P. furfuracea* до и после воздействия катионами кадмия была визуализирована с помощью СЭМ (рис. 1). На поперечных срезах талломов *E. prunastri* (рис. 1*а*) и *P. furfuracea* (рис. 1*г*) виден верхний паraплектенхимный коровый слой, состоящий из плотно

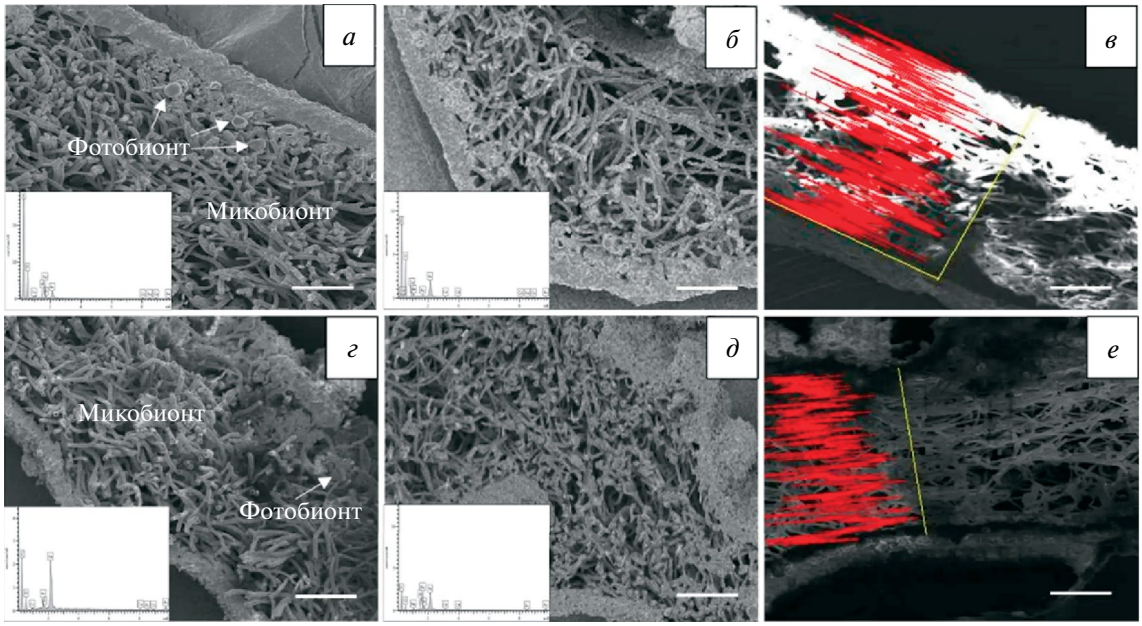


Рис. 1. Электронные микрографии поперечных срезов талломов лишайника *E. prunastri* (*а*–*в*) и *P. furfuracea* (*г*–*е*) до (*а*; *г*) и после (*б*, *в*, *д*, *е*) воздействия катионами кадмия со спектрами элементного состава в контроле (*а*, *г*) и после воздействия (*б*, *д*). Диаграммы распределения кадмия в талломе *E. prunastri* (*в*) и *P. furfuracea* (*е*) показаны красным цветом. Масштабная линейка: 30 мкм

прилегающих друг к другу клеток гиф, расположенных перпендикулярно к поверхности (см. рис. 1). Внутри таллома обнаружены клетки водоросли *Trebouxia* (фотобионта), окруженные рыхло переплетенными гифами (микобионта), составляющие медуллярный слой, ниже которого расположен нижний коровый слой.

Интересно, что после воздействия кадмия значительных морфологических изменений в талломах *E. prunastri* (рис. 1*б*) и *P. furfuracea* (рис. 1*д*) не обнаружено. Напротив, было показано, что воздействие ТМ на эпигейные лишайники *Peltigera canina* и *P. rufescens* вызывает морфологические изменения, такие как потемнение талломов, уменьшение размеров талломов и длины ризин (Goyal, Seaward, 1982b). Вероятно, это связано с тем, что у эпигейных лишайников ризины и сердцевина играют важную роль в накоплении и перемещении металлов через талломы (Goyal, Seaward, 1982b).

Можно полагать, что изменения морфологии талломов могут быть связаны не только с концентрацией и длительностью воздействия ТМ, но и видоспецифичностью лишайников, что определяется разной чувствительностью видов, механизмами адаптации и способностью к изменению формы талломов при накоплении ТМ.

Элементный анализ методом СЭМ подтвердил наличие кадмия в опытных образцах. Данные диаграммы распределения металла на поперечном срезе талломов лишайников *E. prunastri* (рис. 1*в*) и *P. furfuracea* (рис. 1*е*) свидетельствуют о том, что накопление кадмия произошло преимущественно в медуллярной зоне талломов лишайников. Лишайники могут накапливать и удерживать ТМ на поверхности талломов или во внутренних слоях в количествах, значительно превышающих физиологические потребности лишайников. Было определено (Nieboer et al., 1978) что мертвые талломы накапливают несколько больше ТМ, чем живые. При изучении неоднородности распределения ТМ в талломе листоватых лишайников показано, что в загрязненных районах центральная часть таллома может иметь более высокие концентрации некоторых металлов, чем периферийные части (Bargagli et al., 1987). В периферийных (молодых) и центральных (старых) частях талломов *Flavoparmelia caperata* содержание элементов, имеющих ограниченное метаболическое значение (Al, Cd, Pb), было выше в центральных частях таллома, что позволяет предположить, что они задерживаются в сердцевине (Loppi et al., 1997). Элементы, необходимые для метаболизма (Co, Cu, Mo, Zn), были сконцентрированы в периферийных областях таллома, наиболее метаболически активных. Эти исследования свидетельствуют о том, что металлы могут перемещаться из одной части таллома в другую.

Бионты лишайников по-разному участвуют в накоплении ТМ. Микобионт, составляющий более 90 % от общей биомассы лишайников, накапливает бóльшую часть ТМ из окружающей среды. Показано (Sanità di Toppi et al., 2005a), что для некоторых металлов (например, Cd и Cr) гифы микобионтов являются основными местами накопления. Катионы различаются по способности

связываться с клеточной стенкой и, как следствие, могут вытеснять друг друга. Использование $NiCl_2$ или Na_2-EDTA в качестве агентов, вытесняющих экстраклеточный кадмий, позволяет отличить накопление ТМ в клеточной стенке от общего накопления металлов талломами лишайников (Brown, Beckett, 1985; Monnet et al., 2005).

При определении вне- и внутриклеточного содержания кадмия в талломах лишайников *E. prunastri* и *P. furfuracea* с использованием $NiCl_2$ в качестве Cd-вытесняющего агента обнаружено, что увеличение содержания кадмия происходит с возрастанием концентрации металла. При этом содержание кадмия в клеточных стенках талломов (внеклеточный кадмий) было в несколько десятков раз выше, чем внутри клеток грибных гиф всего таллома, у обоих видов лишайников (рис. 2). Количественное содержание как вне- (рис. 2*а*), так и внутриклеточного кадмия (рис. 2*б*) в талломах лишайника *E. prunastri* значительно выше, чем у лишайника *P. furfuracea*.

Было показано, что значения K_m (константа Михаэлиса) и V_{max} (максимальная скорость) экстраклеточного и внутриклеточного поглощения кадмия *E. prunastri* значительно выше, чем у *P. furfuracea* (табл. 1) и сопоставимы со значениями кинетических характеристик, полученных при изучении поглощения кадмия печеночником *Dumortiera hirsuta* (Sw.) Nees (Mautsoe, Beckett, 1996). Более высокие значения K_m у *E. prunastri*, возможно, свидетельствуют о более низком сродстве транспортной системы лишайника к кадмию по сравнению с *P. furfuracea*. K_m и V_{max} лишайника *P. furfuracea* находятся на уровне показателей у лишайников рода Peltigera (Beckett, Brown, 1984).

В лишайниках более половины всего накопленного кадмия иммобилизуется клеточной стенкой (Sanità di Toppi et al., 2004). Клеточная стенка является важным местом накопления металлов благодаря наличию отрицательно заряженных анионных участков (Collins, Farrar, 1978). К ним относятся карбоксильные и фосфатные группы, а также аминные и гидроксильные группы. Накопление металлов обычно сопровождается быстрым высвобождением протонов (Nieboer et al., 1976). Связывание металлов клеточными стенками микобионта и фотобионта является одним из важнейших механизмов защиты лишайников от избытка металлов.

Локализация кадмия внутри талломов *E. prunastri* и *P. furfuracea* до сих пор остается неизученной. В клетках фотобионта Trebouxia секвестрация кадмия возможна внутри хлоропластов и митохондрий, как это происходит, например, у водоросли *Euglena gracilis* G.A. Klebs (Perales-Vela et al., 2006). Одной из наиболее вероятных органелл накопления кадмия в клетках микобионтов является

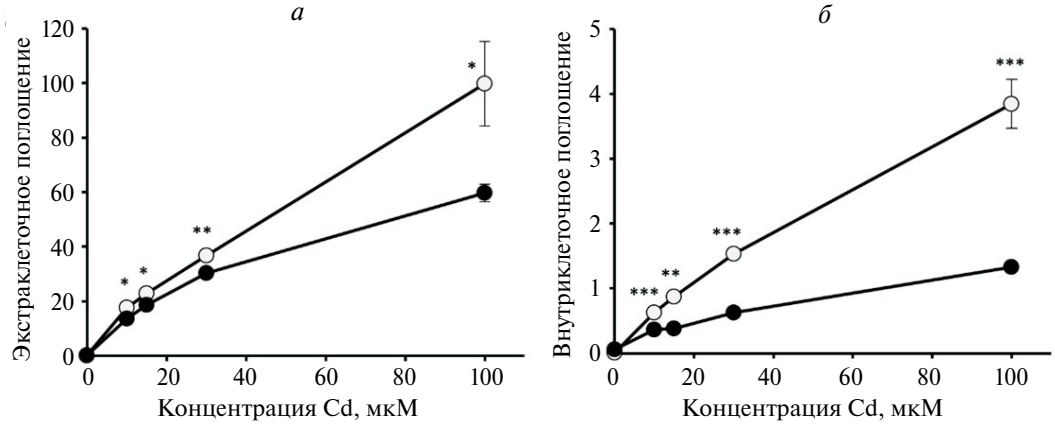


Рис. 2. Внеклеточное (*а*) и внутриклеточное (*б*) поглощение кадмия (Cd) талломами *E. prunastri* (белые кружки) и *P. furfuracea* (черные кружки). Поглощение выражено в мкмоль Cd на 1 г сухого веса. Достоверность различий определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA при $P < 0.1$ (*), $P < 0.05$ (**) и $P < 0.01$ (***). Приведены средние значения и их ошибки, $n = 5$

Таблица 1. Значения K_m (константы Михаэлиса) и V_{max} (максимальной скорости) вне- и внутриклеточного поглощения кадмия лишайниками

Вид лишайника	K_m, мкМ		V_{max}, мкмоль на 1 г сухого веса за 1 ч	
	Внеклеточное	Внутриклеточное	Внеклеточное	Внутриклеточное
Evernia prunastri	183.62 ± 44.82	162.84 ± 15.95	283.27 ± 51.96	10.10 ± 0.67
Pseudevernia furfuracea	59.70 ± 2.94	67.84 ± 14.84	95.52 ± 2.39	2.22 ± 0.28

вакуоль, с помощью которой осуществляется компартментализация и предотвращается свободная циркуляция кадмия в цитозоле (Sanità di Toppi et al., 2004). Кроме того, в гифах микобионтов локализация внутриклеточного кадмия показана в концентрических тельцах, органеллах, которые обычно присутствуют у лихенизированных аскомицетов (Sanità di Toppi et al., 2005a). Хотя их роль еще далека от понимания, они могут быть важны для детоксикации металлов. Все эти предположения требуют дальнейшего детального анализа.

Лишайники продуцируют множество вторичных метаболитов, в том числе уникальных лишайниковых веществ, которые вовлечены во взаимодействие лишайников с окружающей средой. Некоторые из них расположены в верхней части коры, в то время как большинство — в сердцевине (Solhaug et al., 2008). Известно, что вторичные метаболиты лишайников, секретируемые преимущественно грибным партнером, функционируют *in vitro* как хелаторы катионов, включая ТМ (Hauck et al., 2009; Elečko et al., 2022). К сожалению, хелатирующая способность этих соединений *in vivo* в талломах лишайников детально не изучена.

Сообщается (Purvis et al., 1987) о комплексообразовании меди с норстиктиновой кислотой в коре лишайников *Acarospora smaragdula* (Wahlenb.) A. Massal. и *Lecidea lactea* Florke ex Schaerer, выращенных на медь-содержащих субстратах. Обнаружено (Bačkor, Fahselt, 2004), что усниновая кислота, один из наиболее широко распространенных вторичных метаболитов лишайников, может связываться с Cu, Ni, Fe и Al в талломах *Cladonia pleurota* (Flörke) Schaer, произрастающей на богатых металлами почвах. Можно полагать, что наличие тех или иных вторичных метаболитов влияет на физико-химические свойства поверхности талломов. Ранее при исследовании наномеханических характеристик талломов лишайника *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. нами были показаны изменения адгезивных свойств клеток кортекса, происходящие при ультрафиолетовом излучении типа Б с длиной волны 280—315 нм индуцированном синтезе меланина (Daminova et al., 2023). Структура поверхности, адгезивность и водоудерживающая способность талломов влияют на накопление металлов в лишайниках (Brown, Beckett, 1985).

Для изучения топографии поперечных срезов талломов лишайников *E. prunastri* и *P. furfuracea* с помощью АСМ мы проанализировали параметры адгезии и жесткости поверхности верхнего кортекса срезов талломов до и после воздействия кадмия. Как показано на рис. 3, спектры распределения числовых значений параметров адгезии и жесткости талломов лишайников, обработанных 100 мкМ $CdCl_2$, отличаются от таковых в контроле. Адгезия поверхности талломов *E. prunastri* уменьшается после воздействия в 1.2 раза, а параметр жесткости — в 1.8 раза, в то время как у *P. furfuracea* адгезия уменьшается в 1.5 раза, а жесткость — в 1.6 раза (рис. 3). Таким образом, воздействие кадмия даже в относительно невысокой концентрации изменяет наномеханические свойства кортекса. Интересно, что, несмотря на бóльшую активность *E. prunastri* по накоплению кадмия по сравнению с *P. furfuracea* (рис. 2), параметры

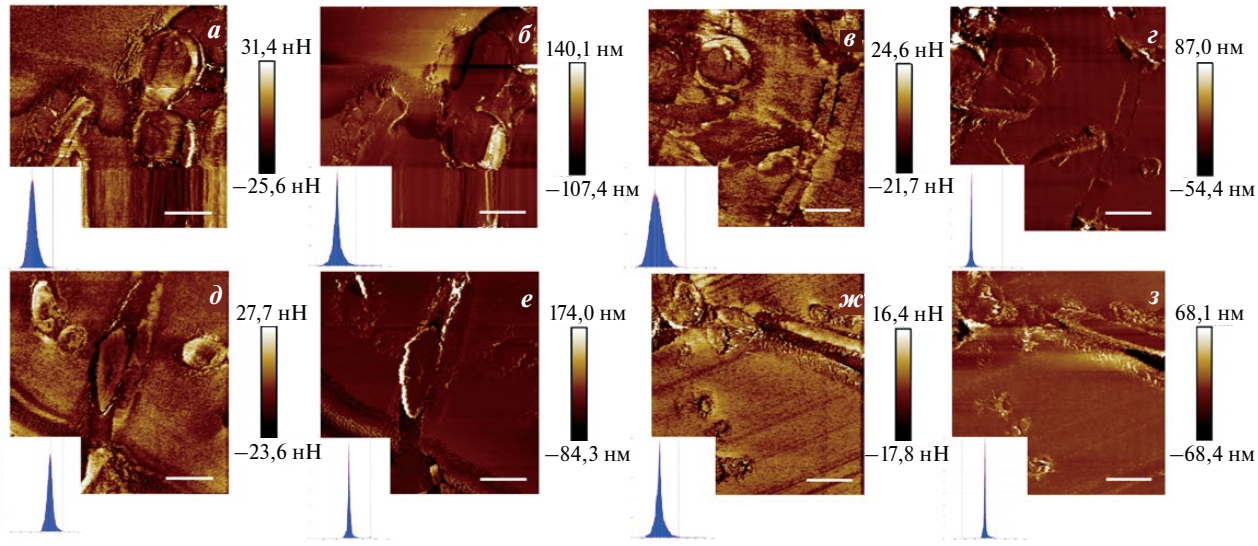


Рис. 3. Визуализация поверхности поперечных срезов талломов лишайников *E. prunastri* (*а*–*г*) и *P. furfuracea* (*д*–*з*). Атомно-силовая микроскопия. Параметры адгезии (*а*, *в*, *д*, *ж*) и жесткости (*б, г*, *е*, *з*). Шкалы цветовой насыщенности справа показывают изменение параметров адгезии (нН) и жесткости (нм). Синим цветом показаны соответствующие спектры распределения числовых значений параметров. Масштабная линейка — 6 мкм

жесткости (рис. 3*б*, *г*, *е*, *з*) и адгезии различаются незначительно (рис. 3*а*, *в*, *д*, *ж*).

Мажорными вторичными метаболитами в талломе лишайника *E. prunastri* являются усниновая кислота, эверновая кислота, атранорин, а у лишайника *P. furfuracea* — физодовая кислота и ее производные, а также меланин-содержащие соединения. Несмотря на различия в составе вторичных метаболитов, их роль в защите талломов от ТМ, по-видимому, схожа и основана на комплексообразовании с металлами, их хелатировании и последующей секреции экстраклеточно. Это предположение требует дальнейших исследований в экспериментах как *in vitro*, так и *in silico* с помощью методов био- и хемоинформатики.

Таким образом, наша работа показала эффективность лишайников в накапливании кадмия из окружающей среды, однако до сих пор неясно, как это происходит. Общепринято, что большая часть ТМ накапливается в рыхлом гифальном плетении сердцевины лишайников. ТЭМ выявила наличие пор и отверстий в клетках кортекса, которые могут задерживать частицы или позволяют им проникать внутрь таллома. Кроме того, связывание кадмия как на поверхности, так и в медуллярной зоне обеспечивается вторичными метаболитами.

В рамках нашей работы информация о содержании внутри- и внеклеточного кадмия и локализации металла в медуллярной зоне межгифгового пространства в талломах близкородственных видов лишайников *E. prunastri* и *P. furfuracea* из семейства пармелиевых позволила приблизиться к расшифровке механизмов, обеспечивающих формирование устойчивости лишайников к действию ТМ. Полученные данные об изменениях наномеханических свойств поверхности талломов, в том числе параметров адгезии и жесткости, свидетельствуют о возможном участии вторичных метаболитов в стрессовой устойчивости лишайников при действии ТМ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Bačkor M., Fahselt D.* 2004. Physiological attributes of the lichen *Cladonia pleurota* in metal-rich and control sites near Sudbury (Ontario, Canada). Environ. Exp. Bot. V. 52. P. 149. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.01.014
2. *Bačkor M., Loppi S.* 2009. Interactions of lichens with heavy metals. Biologia Plantarum. V. 53. P. 214. https://doi.org/10.1007/s10535-009-0042-y
3. *Bargagli R.* 2016. Moss and lichen biomonitoring of atmospheric Mercury: a review. Sci. Total Environ. V. 572. P. 216. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.202
4. *Beckett R. P., Brown D. H.* 1984.The control of cadmium uptake in the lichen genus Peltigera J. Exp. Bot. V. 35. Art. ID: 1071. https://doi.org/10.1093/jxb/35.7.1071
5. *Bargagli R., Iosco F. P., Damato M. L.* 1987. Zonation of trace metal accumulation in 3 species of epiphytic lichens belonging to the genus *Parmelia*. Cryptogamie Bryol. Lichenol. V. 8. P. 331.
6. *Białońska D., Dayan F. E.* 2005. Chemistry of the Lichen *Hypogymnia physodes* transplanted to an industrial region: Białońska and Dayan. J. Chem. Ecol. V. 31. P. 2975. https://doi.org/10.1007/s10886-005-8408-x
7. *Branquinho C.* 2001. Lichens. In: *Prasad M. N. V.* (Ed.) Metals in the Environment. CRC Press: Boca Raton, FL, USA.
8. *Brown D. H., Beckett R. P.* 1985. Minerals and lichens: localization and effect. In: *Vicente C., Brown D. H., Legaz M. E.* (ed.) Surface physiology of lichens. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. P. 127.
9. *Collins C. R., Farrar J. F.* 1978. Structural resistance to mass transfer in the lichen *Xanthoria parietina*. New Phytol. V. 81. P. 71. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1978.tb01605.x
10. *Daminova A. G., Rassabina A. E., Khabibrakhmanova V. R., Beckett R. P., Minibayeva F. V.* 2023. Topography of UV-melanized thalli of *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. Plants. V. 12. Art. ID: 2627. https://doi.org/10.3390/plants12142627
11. *Eisenreich W., Knispel N., Beck A.* 2011. Advanced methods for the study of the chemistry and the metabolism of lichens. Phytochem. Rev. V. 10. P. 445. https://doi.org/10.1007/s11101-011-9215-3
12. *Elečko J., Vilkova M., Frenak R., Routray D., Ručova D., Bačkor M., Goga M.* 2022. A comparative study of isolated secondary metabolites from lichens and their antioxidative properties. Plants. V. 11. Art. ID: 1077. https://doi.org/10.3390/plants11081077
13. *Gall J. E., Boyd R. S., Rajakaruna N.* 2015. Transfer of heavy metals through terrestrial food webs: a review. Environ. Monit. Assess. V. 187. Art. ID: 201. https://doi.org/10.1007/s10661-015-4436-3

14. *Goga M., Elečko J., Marcinčinová M., Ručová D., Bačkorová M., Bačkor M.* 2020. Lichen metabolites: an overview of some secondary metabolites and their biological potential. Co-evolution of secondary metabolites. P. 175. https://doi.org/10.1007/978-3-319-76887-8_57-1
15. *Goyal R., Seaward M. R. D.* 1982a. Metal uptake in terricolous lichens. II. Effects on the morphology of *Peltigera canina* and *Peltigera rufescens*. New Phytol. V. 90. P. 73. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1982.tb03243.x
16. *Goyal R., Seaward M. R. D.* 1982b. Metal uptake in terricolous lichens. III. Translocation in the thallus of *Peltigera canina*. New Phytol. V. 90. P. 85. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1982.tb03244.x
17. *Hauck M., Willenbruch K., Leuschner C.* 2009. Lichen substances prevent lichens from nutrient deficiency. J. Chem. Ecol. V. 35. P. 71. https://doi.org/10.1007/s10886-008-9584-2
18. *Loppi S., Nelli L., Ancora S., Bargagli R.* 1997. Accumulation of trace elements in the peripheral and central parts of a foliose lichen thallus. Bryologist. V. 100. P. 251. https://doi.org/10.2307/3244059
19. *Maslać A., Maslać M., Tkalec M.* 2016. The impact of cadmium on photosynthetic performance and secondary metabolites in the lichens *Parmelia sulcata*, *Flavoparmelia caperata* and *Evernia prunastri*. Acta Botanica Croatica. V. 75. P. 186. https://doi.org/10.1515/botcro-2016-0034
20. *Mautsoe P. J., Beckett R. P.* 1996. A preliminary study of the factors affecting the kinetics of cadmium uptake by the liverwort *Dumortiera hirsuta*. South African J. Bo. V. 62. P. 332.
21. *Mikhailova I. N., Kshnyasev I. A.* 2012. Content of heavy metals in thalli of the lichen *Hypogymnia physodes*: sources of heterogeneity. Contemporary Problems Ecol. V. 53. P. 314. https://doi.org/10.1134/S1995425512030134
22. *Molnár K., Farkas E.* 2010. Current results on biological activities of lichen secondary metabolites: a review. Zeitschrift für Naturforschung. C. V. 65. P. 157.
23. *Monnet F., Bordas F, Deluchat V., Chatenet P., Botineau M., Baudu M.* 2005. Use of the aquatic lichen Dermatocarpon luridum as bioindicator of copper pollution: accumulation and cellular distribution tests. Environ. Pollut. V. 138. P. 455. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.04.019
24. *Nash T. H., Gries C.* 1995. The use of lichens in atmospheric deposition studies with an emphasis on the Arctic. Sci. Total Environ. V. 160. P. 729. https://doi.org/10.1016/0048-9697(95)04406-Q
25. *Nieboer E., Puckett K. J., Grace B.* 1976. The uptake of nickel by *Umbilicaria muhlenbergii* a physicochemical process. Can. J. Bot. V. 54. P. 724. https://doi.org/10.1139/b76-078
26. *Nieboer E., Richardson D. H. S., Tomassini F. D.* 1978. Mineral uptake and release by lichens an overview. Bryologist. V. 81. P. 226. https://doi.org/10.2307/3242185
27. *Osyczka P., Rola K.* 2019. Integrity of lichen cell membranes as an indicator of heavy-metal pollution levels in soil. Ecotoxicol. Environ. Saf. V. 174. P. 26. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.054
28. *Pawlik-Skowrońska B., Bačkor M.* 2011. Zn/Pb-tolerant lichens with higher content of secondary metabolites produce less phytochelatins than specimens living in unpolluted habitats. Environ. Exp. Bot. V. 72. P. 64. https://doi.org/10.1016/J.ENVEXPBOT.2010.07.002
29. *Perales-Vela H. V., Peña-Castro J. M., Cañizares-Villanueva R. O.* 2006. Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae. Chemosphere. V. 64. P. 1. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.11.024
30. *Purvis O. W., Elix J. A., Broomhead J. A., Jones G. C.* 1987. The occurrence of copper-norstictic acid in lichens from cupriferous substrata. Lichenologist. V. 19. P. 193. https://doi.org/10.1017/S0024282987000161
31. *Sanità di Toppi L., Musetti R., Marabottini R., Corradi M. G., Vattuone Z., Favali M. A., Badiani M.* 2004. Responses of *Xanthoria parietina* thalli to environmentally relevant concentrations of hexavalent chromium. Funct. Plant Biol. V. 31. P. 329. https://doi.org/10.1071/FP03171

32. *Sanità di Toppi L., Marabottini R., Vattuone Z., Musetti R., Favali M.A., Sorgonà A., Badiani M.* 2005a. Cell wall immobilization and antioxidant status of *Xanthoria parietina* thalli exposed to cadmium. Funct. Plant Biol. V. 32. P. 611. https://doi.org/10.1071/FP04237

33. *Sanità di Toppi L., Musetti R., Vattuone Z., Pawlik-Skowrońska B., Fossati F., Bertoli L., Badiani M., Favali M.A.* 2005b. Cadmium distribution and effects on ultrastructure and chlorophyll status in photobionts and mycobionts of *Xanthoria parietina*. Microscop. Res. Techn. V. 66. P. 229. https://doi.org/10.1002/jemt.20166

34. *Seppelt R.D.* 2007. Phytogeography of Continental antarctic lichens. Lichenologist. V. 27. P. 417. https://doi.org/10.1016/S0024-2829(95)80003-4

35. *Solhaug K.A., Lind M., Nybakken L., Gauslaa Y.* 2008. Possible functional roles of cortical depsides and medullary depsidones in the foliose lichen *Hypogymnia physodes*. Flora-Morphol. Distrib. Funct. Ecol. Plants. V. 204. P. 40. https://doi.org/10.1016/j.flora.2007.12.002

36. *Suhani I., Sahab S., Srivastava V., Singh R.P.* 2021. Impact of cadmium pollution on food safety and human health. Curr. Opin. Toxicol. V. 27. P. 1. https://doi.org/10.1016/j.cotox.2021.04.004

37. *Tosic S., Pavlovic A., Dimitrijevic I., Zlatanovic I., Mitic V., Stojanovic G.* 2022. Elemental composition of selected lichen species growing on the Balkan Peninsula. J. Serb. Chem. Soc. V. 87. P. 1313. https://doi.org/10.2298/JSC220223049T

38. *Wilkinson G.N.* 1961. Statistical estimations in enzyme kinetics. Biochem. J. V. 80. P. 324.