

ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ МЕЛАНИНОВ В АДАПТАЦИИ ЛИШАЙНИКОВ К ЭКСТРЕМАЛЬНЫМ ФАКТОРАМ АНТАРКТИДЫ

И.А. Багманян¹, В.Е. Мямин¹, Ю.Г. Гигиняк², О.И. Бородин², В.П. Курченко¹

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²Государственное научно-производственное объединение «Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам», Минск, Беларусь



Багманян Ирина Александровна, магистрант научно-исследовательской лаборатории прикладных проблем биологии кафедры зоологии БГУ. Научные интересы связаны с изучением роли меланиновых пигментов лишайников в экстремальных условиях существования.



Гигиняк Юрий Григорьевич, кандидат биологических наук, сотрудник Государственного научно-производственного объединения «Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам». Научные интересы – экологическая физиология пресноводных и морских гидробионтов, факторная экология, энергетическая оценка водных животных. Основное направление исследований в настоящее время – «Экологическая обусловленность существования гидробионтов».



Мямин Владислав Евгеньевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии биологического факультета БГУ, vladmiamin@mail.ru. Научные интересы связаны с изучением микроорганизмов Антарктики.

Введение

Живые организмы Антарктики часто относят к экстремофилам, поскольку они способны выживать в самых неблагоприятных условиях, зачастую воздействующих на них в виде абиотических факторов внешней среды. В Восточной Антарктиде расположен абсолютный полюс холода, в котором 10 августа 2010 года зафиксирована самая низкая на планете температура воздуха – минус 93,2°C. Особенно сильно сверхнизкие температуры воздействуют на обитателей Антарктики в период антарктической зимы, которая длится более 6 месяцев, с апреля по сентябрь. Даже в прибрежных районах, характеризующихся более мягким климатом по сравнению с континентальной Антарктидой, значения температуры редко поднимаются выше 0°C. Другой особенностью (особенно Восточной Антарктиды) являются сильные стоковые (катабатические) ветра, достигающие максимальной силы (более 60 м/сек) в прибрежных районах и дующие практически непрерывно круглые сутки с апреля по ноябрь. В период короткого антарктического лета (около 2 месяцев, декабрь-январь) животный и растительный мир этого региона подвержен довольно жесткому воздействию суммарной солнечной радиации – более 30 ккал/см² в месяц. В то же время в период зимы практически весь материк не получает тепла солнечной коротковолновой радиации. В Антарктиде находятся самые засушливые регионы планеты – сухие долины Мак-Мердо, которые относятся к пустыням и занимают площадь около 8 тыс. км², которая не покрыта снегом и льдом. Осадки в некоторых регионах долин Мак-Мердо не выпадали более двух миллионов лет. В этих экстремальных условиях флора Антарктики

представлена преимущественно лишайниками. Среди лишайников-экстремофилов описано более 38 видов из 19 родов и 10 семейств: *Acarosporaceae*, *Candelariaceae*, *Catillariaceae*, *Lecanoraceae*, *Lecideaceae*, *Parmeliaceae*, *Physciaceae*, *Rhizocarpaceae*, *Theloschistaceae*, *Umbilicariaceae* [1, 2].

В ходе летних полевых сезонов 2012–2013 гг. и 2013–2014 гг. научно-экспедиционным составом 5-й и 6-й Белорусских антарктических экспедиций в районе базирования белорусской полевой базы «Гора Вечерняя» (Восточная Антарктида, Земля Эндерби, холмы Тала, оазис Гора Вечерняя, 67°39' ю.ш., 46°09' в.д.) проведен сбор лишайников, которые были представлены 5 видами.

В этот период на полевой базе «Гора Вечерняя» наблюдались положительные температуры (до +8,4°C), что сопровождалось интенсивным таянием снежного покрова. На скальных выступах наблюдалось развитие лишайниковой флоры (рисунок 1), которая окрашивала в характерный коричнево-черный цвет каменные породы.

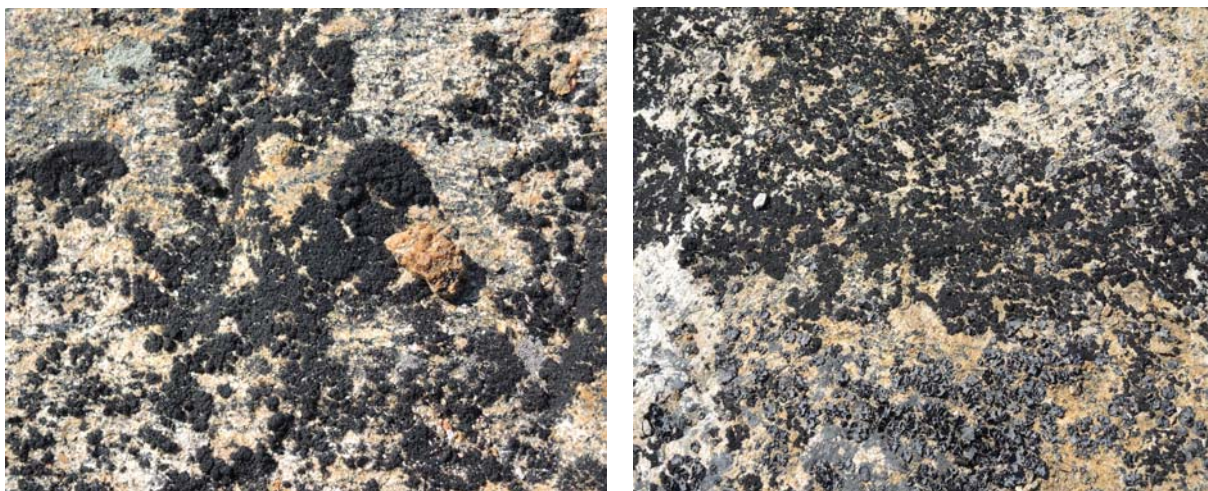


Рисунок 1 – Лишайниковая флора Антарктиды

Меланины – собирательное название группы биополимеров полиароматической природы. Они широко распространены в различных таксономических группах организмов. Им отводится роль клеточных фото- и радиопротекторов, эндогенных регуляторов окислительно-восстановительных потенциалов. Эти свойства способствуют выживанию организмов в экстремальных условиях – низкие температуры, низкое содержание воды и органических субстратов, повышенная радиация [3]. Меланины остаются еще мало изученными как в отношении структуры, так и в отношении механизма их действия, что не позволяет в полной мере оценить биологическое значение этих полифенолов.

Материалы и методы исследования

Объектами исследования служили лишайники *Xanthoria elegans*, *Physcia caesia*, *Usnea sphacelata*, *Umbilicaria africana*, *Pseudephebe pubescens*. Образцы для исследования предоставили Мямин В.Е. и Гигиняк Ю.Г.

Определение видовой принадлежности лишайников в лабораторных условиях проводили с помощью определителей [4, 5], учитывая морфологические параметры и результаты качественных реакций с 10% раствором NaOH и разбавленным в 2 раза стандартным раствором Люголя.

Меланины были получены экстракцией из высушенных талломов лишайников 0,1н NaOH при 50°C в течение 3 ч при перемешивании с последующим трехкратным переосаждением 1н HCl до установления кислой pH, диализом против воды до нейтрального pH и сушкой.

Исследования электронного парамагнетизма проводили на спектрометре “Varian E-112” (США) на кафедре полупроводников физического факультета БГУ. Измерения проводили

при комнатной температуре, температуре жидкого азота и при 100°C. Содержание парамагнитных центров (ПМЦ) определяли методом сравнения с аттестованным образцом угольного порошка с известным содержанием центров. Для расчета g-факторов использовали в качестве эталона Mn^{2+} в порошке MgO [6].

Элементный состав определяли с помощью рентгенофлуоресцентной спектрометрии. Образцы подвергали механическому измельчению. Производили их озонение при температуре 550°C в течение 5,5 часов. Спектральный анализ проводили на приборе ElvaX (США) в лаборатории таможенных исследований и экспертиз Таможенного комитета РБ. Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием соответствующего приложения программы Microsoft Office Excel 2003 [7].

Результаты и обсуждение

Исследования отдельных участков скальных обнажений вокруг полевой базы «Гора Вечерняя» показали высокую плотность покрова лишайниковой флоры, которая достигала 80%. Среди наземной флоры этих участков было собрано 5 видов лишайников: *Physcia caesia*, *Xanthoria elegans*, *Umbilicaria africana*, *Usnea sphacelata*, *Pseudephebe pubescens* (рисунок 2).



Xanthoria elegans (слева сверху), *Pseudephebe pubescens* (по центру сверху), *Usnea sphacelata* (справа сверху), *Umbilicaria africana* (слева снизу), *Physcia caesia* (справа снизу)

Рисунок 2 – Виды лишайнофлоры Антарктиды

Большинство из них имели серо-черную окраску, свидетельствующую о содержании в микобионте лишайников меланиновых пигментов. Характерной особенностью меланиновых пигментов является наличие высокостабильных парамагнитных центров, разнообразных функциональных групп, а также системы сопряженных двойных связей в их молекулах. Отличительной особенностью меланинов, определяющей их основную защитную функцию в организме, является высокое содержание неспаренных электронов. Большая электронно-абсорбционная емкость позволяет меланинам дезактивировать природные радикалы,

образующиеся в ряде физических и химических процессов. В связи с этим проведено исследование содержания парамагнитных центров в меланинах лишайников. Полученные данные были подвергнуты анализу в сравнении с показателями ПМЦ у меланинов, выделенных из макромицетов и микромицетов [8, 9] (таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика ЭПР-сигналов меланиновых пигментов лишайников Антарктиды, макромицетов и микромицетов

Источник меланина	g-фактор	ΔH , Гс (G)	$N \times 10^{17}$, спин/г (spin/g)
<i>Xanthoria elegans</i>	2,0037	4,5	0,1
<i>Physcia caesia</i>	2,0038	4,0	2,0
<i>Usnea sphacelata</i>	2,0041	4,5	0,45
<i>Umbilicaria africana</i>	2,0023	4,5	4,2
<i>Pseudophebe pubescens</i>	2,0029	4,5	0,94
Трутовик настоящий [8] <i>Fomes fomentarius</i>	2,0043	6,0	5,9
Трутовик плоский [8] <i>Ganoderma applanatum</i>	2,0045	6,3	8,7
Трутовик дубовый ложный [8] <i>Phellinus robustus</i>	2,0043	6,0	5,2
<i>Aspergillus niger</i> [9]	2,0033	5,0	2,4
<i>Aspergillus carbonarius</i> [9]	2,0032	5,0	4,1
<i>Phaeococcus variotii</i> [9]	2,0037	6,0	6,8

В исследованных образцах лишайников Антарктиды были зарегистрированы ЭПР-сигналы с g-фактором $2,0034 \pm 0,0009$ и шириной линии 3,5–6,3 Гс. Ранее проведенные исследования парамагнитных свойств меланинов из макро- и микромицетов показали близкие результаты (таблица 1), что соответствует ранее описанному в литературе идентификационному ЭПР-сигналу меланинов [10]. Близкие значения g-фактора $2,0038 \pm 0,0004$ позволяют предположить единую природу парамагнитных центров для всех исследованных меланинов, независимо от источника их выделения. Содержание парамагнитных центров для разных меланинов варьирует в широких пределах (от 10^{16} до 10^{18} спин/г). Следует отметить, что содержание ПМЦ в лишайниках Антарктиды ниже, чем в других источниках меланина. Близость g-фактора центрального сигнала меланинов к g-фактору свободного электрона (2,0023) указывает на незначительные отличия свойств неспаренных электронов меланинов от свойств свободных электронов. Анализ ширины сигналов ЭПР позволяет отнести эти спектры к категории узких, которые являются характерными для ароматических систем со сплошной цепью напряжения.

Меланиновые пигменты исследованных лишайников Антарктиды находятся в комплексе с хитином, который является неотъемлемым компонентом микобионта. Кустистые и листоватые лишайники Антарктиды отличаются жестким талломом, который формируется благодаря взаимодействию хитин-меланинового комплекса микобионта с Са и другими элементами. Лишайники способны накапливать в своих телах различные химические вещества. В связи с этим был проведен анализ их элементного состава.

Лишайники отличаются незначительным накоплением минеральных веществ. Согласно литературным данным [7], в среднем их зольность достигает 2–4% и различается у видов разных групп. По увеличению зольности они образуют следующий ряд: кустистые листоватые – накипные (до 6–8%) [11]. В нашем исследовании зольность образцов составила для листоватых 3,05–15,8%, для кустистых 5–18,9%, что выше в 1,5–3 раза. Это можно объяснить относительно высоким содержанием металлов по массе в лишайниках. Для

элементного состава зол лишайников всех видов характерно относительно высокое содержание Са и Si по сравнению с остальными макроэлементами. В то же время различные виды лишайников проявляют неодинаковую активность к накоплению элементов, что отражает их видоспецифичность.

Элементный состав конкретного лишайника зависит от его видовой принадлежности, возраста, субстрата и условий обитания. Лишайники характеризуются рядом свойств.

1. *Долголетие*. Лишайники относятся к самым долгоживущим организмам. Есть данные, что некоторые экземпляры из арктических и альпийских видов имеют возраст в несколько сотен лет и более.

2. *Медленный рост*. Исследования показали, что прирост накипных лишайников составляет 0,25–0,5 мм в год, ягеля – 2–7 мм в год. Он может увеличиваться у лишайников, поселяющихся на почве, но у большинства видов редко превышает 1 см. Замедленный рост определяет растянутость отдельных жизненных фаз. Например, плодовые тела у лишайников впервые образуются после многих лет роста [4].

3. *Круглогодичность жизненного цикла* и сохранение жизнедеятельности при отрицательной температуре.

4. *Преобладание азрального питания*. Возможность впитывать атмосферную влагу и осуществлять свободный газообмен в связи с отсутствием непроницаемой кутикулы.

5. *Неспособность к ежегодному освобождению от поллютантов* и, как следствие, их депонирование.

6. *Высокая чувствительность к находящимся в воздухе токсичным веществам*, хотя по токситолерантности конкретные виды лишайников различаются между собой.

7. *Безбарьерный тип накопления химических элементов*. Установлено, что металлы не только накапливаются в листьях лишайников, но и поглощаются всем его телом, аккумулируясь в тканях. Поглощение металлов представляет собой пассивный процесс диффузии, за счет которого они выборочно абсорбируются лишайниками. Интересно отметить, что металлы оседают на внешней поверхности или внутри клеточных стенок грибного симбионта и иммобилизуются в нем, не влияя на водорослевый симбионт до тех пор, пока их концентрация не превышает пороговых значений. Необходимо отметить, что благодаря этим свойствам лишайники являются индикаторными организмами загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами и другими поллютантами.

Исследование элементного состава лишайников Антарктиды (таблица 2) показало, что некоторые элементы присутствуют в лишайниках в тех же концентрациях, что и в высших растениях, а содержание цинка, кадмия, олова, свинца намного выше [12]. Степень накопления тяжелых металлов в лишайниках тесно связана со степенью загрязнения воздуха. Биологическая роль этих элементов связана с тем, что тяжелые металлы нарушают полупроницаемость клеточных мембран. Медь индуцирует интенсивный выход калия даже в низких концентрациях [13]. Известно, что цинк локализуется внутри клеток лишайников, свинец - на клеточных стенках симбионтов, а железо и медь - на поверхности и/или межклеточных пространствах талломов [12, 13]. Значительное количество свинца, железа, меди и других металлов находится в связанном состоянии с хитин-меланиновым комплексом клеточных стенок микобии и не оказывает существенного влияния на жизнеспособность лишайников. Незначительное стабильное внутриклеточное содержание элементов обеспечивается барьерной функцией плазматической мембраны, которая препятствует процессам поступления и вымывания катионов металлов.

Содержание стронция в талломе лишайников колебалось от 0,7 мг/кг до 26,5 мг/кг. Наибольшие концентрации этого элемента характерны для кустистых лишайников. Содержание рубидия, стронция, иттрия, циркония, титана (таблица 2) в талломе лишайников имеет видовую специфичность.

Среди металлов переменной валентности (алюминий, марганец, железо, медь) в таломе *Usnea sphacelata*, *Pseudephebe pubescens* и *Xanthoria elegans* содержится большое

количество железа. Алюминий и железо являются типичными литогенными элементами. Обогащение лишайников марганцем происходит из-за его участия в процессе фотосинтеза. Источником меди для лишайников может выступать субстрат или удаленные антропогенные объекты.

Таблица 2 – Элементный состав лишайников Антарктиды

Элемент	Листоватые лишайники			Кустистые лишайники	
	<i>Xanthoria elegans</i> , С, мг/кг	<i>Physcia caesia</i> , С, мг/кг	<i>Umbilicaria africana</i> , С, мг/кг	<i>Usnea sphacelata</i> , С, мг/кг	<i>Pseudephebe pubescens</i> , С, мг/кг
Rb (рубидий)	12,70	2,184	0,969	1,0006	5,6696
Sr (стронций)	15,878	9,463	1,938	12,008	26,458
Y (иттрий)	1,59	0,7279	0,3229	0,5003	1,889
Zr (цирконий)	11,115	0,7279	-	-	9,449
Ti (титан)	131,79	48,044	31,97	36,02	158,75
Al (алюминий)	11665,8	2890,7	466,29	1470,4	35769,4
Mg (магний)	3644,1	16,27,7	751,75	н.о.*	н.о.*
Mn (марганец)	14,29	13,103	4,52	3,002	20,788
Fe (железо)	1413,2	535,04	274,8	385,25	2007,03
Cu (медь)	4,76	5,096	7,104	2,502	7,5594
Zn (цинк)	11,115	11,647	14,53	6,004	13,229
K (калий)	88977,3	24935,01	21085,3	9713,2	39961,1
Ca (кальций)	-	18699,44	3803,65	30893,3	23164,03
Br (бром)	1,59	24,75	0,969	7,505	-
Si (кремний)	-	18699,44	3803,65	30893,3	23164,03
P (фосфор)	26491,4	6887,8	865,42	1549,5	6737,4
S (сера)	3880,7	5476,3	3681,9	-	7319,4
Cl (хлор)	1733,9	3398,8	-	2018,3	-

Примечание. *н.о. - ниже предела обнаружения

Из данных таблицы следует, что лишайники Антарктиды поглощают и накапливают элементы с разной энергичностью. К наиболее энергично накапливаемым элементам лишайниками можно отнести фосфор и серу. Менее энергично накапливаются магний, цинк, стронций. Выявлено, что большее количество элементов накапливают кустистые лишайники *Usnea sphacelata*, *Pseudephebe pubescens*. Примечательно, что в них обнаружены наибольшие значения концентрации кальция. Это можно объяснить тем, что кустистые лишайники подвержены воздействию сильных кatabатических ветров (более 60 м/сек) и Ca связанный с меланин-хитиновым комплексом микобионта лишайника придает жесткость структуре таллома.

Листоватые лишайники *Physcia caesia*, *Umbilicaria africana* содержат минимальные концентрации определяемых элементов. Для них характерно энергичное накопление P и S, концентрации металлов переменной валентности и тяжелых металлов наблюдаются в минимальных значениях. Среди листоватых лишайников наибольшее содержание тяжелых

металлов характерно для *Xanthoria elegans*, а среди кустистых - для *Pseudephebe pubescens*. Эти виды лишайников могут выступать в качестве маркеров содержания этих элементов.

Выводы

В результате проведенных исследований установлено, что зарегистрированные ЭПР-сигналы с g-фактором для лишайников Антарктиды $2,0034 \pm 0,0009$ близки по значениям к ранее описанным в литературе. Данный факт позволяют предположить единую природу парамагнитных центров для всех исследованных меланинов, независимо от источника их выделения. Сравнительное исследование элементного состава листоватых и кустистых лишайников Антарктиды показало, что образцы поглощают и накапливают элементы с разной энергичностью. К наиболее энергично накапливаемым элементам лишайниками можно отнести фосфор и серу. Менее энергично накапливаются магний, барий и стронций. Выявлено, что большее количество элементов накапливают кустистые лишайники *Usnea sphacelata*, *Pseudephebe pubescens*. Примечательно, что в них обнаружены наибольшие значения концентрации кальция, который связываясь с меланин-хитиновым комплексом микобионта лишайника придает жесткость структуре таллома. Высокие концентрации элементов в талломах лишайников Антарктиды могут свидетельствовать о значительном возрасте листоватых и кустистых лишайников.

Авторы выражают благодарность Азарко И.И. за техническую помощь в исследовании ЭПР, Клавсуть Г.Н. за техническую помощь в исследовании элементного состава лишайников.

Список литературы

1. Гигиняк, Ю.Г. Новые данные о лишайниках Земли Эндерби (Восточная Антарктида) / Ю.Г. Гигиняк, А.П. Яцына, О.И. Бородин // Доклады НАН РБ. – 2012. – Т. 56. – № 3. – С. 88–92.
2. Andreev, M. P. Notes on the lichen genus *Miriquidica* (Lecanorales, Lecanoraceae) in Russia. / M. P. Andreev // J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung. – 2004. – P. 15–42.
3. Бязров, Л.Г. Лишайники в экологическом мониторинге / Л.Г. Бязров // М.: Мир. – 2002. – 336 с.
4. Цуриков, А.Г. Листоватые и кустистые городские лишайники: атлас-определитель: учебное пособие для студентов биологических специальностей вузов / А.Г. Цуриков, О.М. Храмченкова // Гомельский гос. ун-т им. Ф.Скорины. – 2009. – 123 с.
5. Ochyra, R. Illustrated moss flora of Antarctica / R. Ochyra. Lewis Smith R.I., N. Bendarek-Ochyra // Cambridge. – 2008. – 685 p.
6. Стригудский, В.П. Особенности ЭПР-спектроскопии природных высокомолекулярных соединений / В.П. Стригудский // Химия твердого топлива. – 1981. – №5. – С. 21–27.
7. Бязров, Л.Г. Лишайники – лучшие индикаторы радиоактивного загрязнения / Л.Г. Бязров // Научный журнал «Биология». – 2003. – № 11 (690). – С. 13–27.
8. Сушинская, Н.В. Получение и физико-химические свойства меланинов из базидиомицетов / Н.В. Сушинская, Т.А. Кукулянская, В.П. Курченко, Л.М. Шостак // Труды БГУ. – 2004. – Вып. XII. – С. 193–196.
9. Азарко, И.И. СВЧ-измерение биологически активных соединений / И.И. Азарко, И.А. Карпович, Т.А. Кукулянская, В.П. Курченко, Д.А. Новиков, О.Н. Янковский // 11th International Conference Microwave & Technology. – 2001. – P. 95–96.
10. Гесслер, Н.Н. Меланиновые пигменты грибов в экстремальных условиях существования / Н.Н. Гесслер, А.С. Егорова, Т.А. Белозерская // Прикладная биохимия и микробиология. – 2014. – Т. 50. – № 2. – С. 125–134.
11. Леонтьев, Д.В. Флористический анализ в микологии: учебник для студентов высших учебных заведений / Д.В. Леонтьев // Харьков. – 2008. – 110 с.
12. Анищенко, Л.Н. Особенности аккумуляции тяжелых металлов растениями и лишайниками в условиях сочетанной антропогенной нагрузки / Л.Н. Анищенко, В.Н.

Шапурко, Е.А. Сафранкова // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 9–7. – С. 1527–1531.

13. Красногорская, Н.Н. Анализ содержания тяжелых металлов и соединений серы в лишайниках *Parmelia sulcata* в условиях городской среды / Н.Н. Красногорская, Е.А. Клеттер, Р.Р. Сулейманова, С.Е. Журавлева // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 2. – С. 30–39.

**THE POSSIBLE ROLE OF MELANIN LICHENS IN THE ADAPTATION
TO EXTREME FACTORS IN ANTARCTICA**

I.A. Bagmanyanyan, V.E. Myamin, J.G. Giginyak, O.I. Borodin, V.P. Kurchenko
Belarusian State University, Minsk, Belarus

Melanin from lichens of Antarctica was isolated and was analyzed first. We examined their paramagnetic properties. The effect of temperature on the number of paramagnetic centers in melanin lichens was researched. The data of the concentration of elements in the Antarctic lichen thalli *Xanthoria elegans*, *Pseudephebe pubescens*, *Usnea sphacelata*, *Umbilicaria africana*, *Physcia caesia* were adduced. It was collected by Scientific expedition members 5 and 6 Belarusian Antarctic expeditions during the summer field season 2012-2013 and 2013-2014 at the base area of the Belarusian field base "Gora Evening" (East Antarctica, Enderby Land, the hills of Tala, an oasis of Mountain Evening, 67°39' lat. m., 46°09' in. d.). The results are regarded as "point of reference" for the possible research lichen biota of Antarctica.