

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ОПТИЧЕСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ АНАЛИЗА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК И ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЛИШАЙНИКОВ

А. Ф. Мейсунова^{1*}, А. А. Нотов¹, А. В. Пунгин², Л. Н. Скрыпник²

УДК 574.24+582.29+504.054:546.3

¹ Тверской государственный университет,
Тверь, Россия; e-mail: alexandrauraz@mail.ru

² Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Россия

(Поступила 29 апреля 2021)

С помощью методов оптической спектроскопии в условиях незначительной антропогенной нагрузки в одном местообитании изучены основные физиолого-биохимические характеристики и элементный состав лишайников *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr., *Parmelia sulcata* Taylor, *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. и *Hypogymnia tubulosa* (Schaer.) Hav. Первые три вида нередко используются в качестве индикаторов в биомониторинге с применением данных спектрального анализа. Спектрофотометрическим методом выявлены уровни содержания хлорофиллов а и b, общего азота, фенольных соединений, антирадикальная активность, рассчитан коэффициент феофитинизации. Амперометрическим методом определена антиоксидантная активность. Отмеченные физиолого-биохимические показатели для всех четырех видов свидетельствуют о близости их местообитания к фоновому. Физиологические характеристики в разной степени коррелируют между собой. С помощью атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП) в талломах лишайников обнаружены 22 элемента, в том числе макро- и микроэлементы, а также тяжелые металлы и металлоиды. Максимальные различия по содержанию металлов выявлены у *X. parietina* и *H. tubulosa*. Анализ взаимосвязи физиолого-биохимических характеристик, элементного состава и уровней содержания металлов позволяет выявить у каждого вида сложные системы корреляционных связей. Различия в их структуре могут быть обусловлены спецификой состава вторичных метаболитов, который определяет особенности адаптивных реакций и степень толерантности видов. Использование комплексного анализа физиолого-биохимических характеристик и элементного состава с применением различных спектральных методов актуально для развития биоиндикации и экологической физиологии лишайников.

Ключевые слова: методы оптической спектроскопии, атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно-связанной плазмой, биомониторинг, элементный анализ, тяжелые металлы, металлоиды, *Xanthoria parietina*, *Parmelia sulcata*, *Hypogymnia physodes*, *Hypogymnia tubulosa*, эпифитные лишайники, индикаторный вид, хлорофилл, фенольные соединения, общий азот, коэффициент феофитинизации, антиоксидантная активность, антирадикальная активность.

The main physiological and biochemical characteristics as well as the elemental composition of the lichens *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr., *Parmelia sulcata* Taylor, *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. and *Hypogymnia tubulosa* (Schaer.) Hav. growing under conditions of insignificant anthropogenic load in one habitat were studied using different methods of optical spectroscopy analysis. The first three species are often used as indicators in the biomonitoring based on spectral analysis data. The content of chlorophylls a and b, total nitrogen (TN), phenolic compounds (TPC), antiradical activity (ARA) was determined by spectrophotometric method, and the phaeophytinization quotient (PQ) was calculated. The revealed values of

APPLICATION OF OPTICAL SPECTROSCOPY FOR THE ANALYSIS OF PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS AND ELEMENTAL COMPOSITION OF SOME LICHEN SPECIES

A. F. Meysurova^{1*}, A. A. Notov¹, A. V. Pungin², L. N. Skrypnik² (¹ Tver State University, Tver, Russia; e-mail: alexandrauraz@mail.ru; ² Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia)

physiological and biochemical parameters in all four species indicate the correspondence of their habitat to the background area. The physiological characteristics of the studied species are coordinated and interconnected to varying degrees. Twenty-two elements in lichen thalli were revealed using ICP-AES spectroscopy. These include macro- and microelements, as well as heavy metals and metalloids (HM). The maximum differences in metal content were found in *X. parietina* and *H. tubulosa*. Analysis of the mutual conjugation of the physiological, biochemical characteristics, elemental composition, and metal content made it possible to identify complex systems of correlations in each species. Differences in their structure may be associated with the specificity of the composition of secondary metabolites, which determine the features of adaptive reactions and the degree of tolerance of species. The implementation of a complex analysis of the physiological and biochemical characteristics as well as the elemental composition using various spectral methods is important for the development of the bioindication and ecological physiology of lichens.

Keywords: methods of optical spectroscopy, ICP-AES analysis, biomonitoring, elemental analysis, heavy metals, metalloids, *Xanthoria parietina*, *Parmelia sulcata*, *Hypogymnia physodes*, *Hypogymnia tubulosa*, epiphytic lichens, indicator species, chlorophyll, phenolic compounds, total nitrogen, phaeophytinization quotient, antioxidant activity, antiradical activity.

Введение. При оценке состояния окружающей среды активно используется информация о динамике физиологических показателей и элементном составе талломов эпифитных лишайников. При этом актуально развитие комплексного подхода. Выявление корреляций между физиологическими характеристиками и содержанием экотоксикантов может способствовать выяснению особенностей компенсаторных реакций лишайников и механизмов адаптации к антропогенным воздействиям [1]. В связи с этим существенно возрастает роль современных физических и физико-химических методов, которые позволяют анализировать большинство физиолого-биохимических характеристик, получать детальную и точную информацию об элементном составе лишайников [1, 2]. Для выявления возможностей применения спектральных методов в биомониторинге необходимы специальные исследования, которые помогут осуществить оптимальный подбор индикаторных видов лишайников, вариантов спектроскопического анализа, адекватного математического аппарата для оценки корреляционных связей между параметрами. Такие исследования проводились в Тверской области [1, 3, 4], где значительная площадь, гетерогенность природных и хозяйственно-экономических условий позволяют находить модельные территории разного уровня антропогенной трансформации и природоохранной ценности. Актуально продолжение сравнительного анализа разных видов эпифитных лишайников, особенно лишайников с различной поглощающей способностью и толерантностью к антропогенному воздействию в пределах одного местообитания. По сравнению с [1, 3, 4] в настоящей работе расширен набор модельных видов. Среди них эпифитные лишайники с разной степенью чувствительности к антропогенному загрязнению — *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr., *Parmelia sulcata* Taylor, *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. и *Hypogymnia tubulosa* (Schaer.) Nav. Первые три вида нередко используются в качестве индикаторов в биомониторинге с применением данных спектроскопии [1–6]. В качестве основных физиолого-биохимических характеристик учтены показатели, которые отражают состояние фотосинтетической системы, содержание фенольных соединений, антиоксидантную и антирадикальную активность. Они соотнесены с данными об элементном составе [7, 8]. Расширен набор используемых методов: спектральные (атомно-эмиссионный, спектрофотометрический) и амперометрический методы, которые применялись при изучении лишайников [9, 10]. Найдена модельная территория, на которой в пределах одной экологической ниши встречаются вместе четыре вида лишайников.

Цель данной работы — сравнительный анализ взаимосвязи физиологических характеристик и элементного состава четырех видов эпифитных лишайников с использованием методов оптической спектроскопии. Определены основные физиолого-биохимические показатели и характер их взаимосвязи у модельных видов; с помощью атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП) выявлен элементный состав талломов лишайников; определена степень скоррелированности физиолого-биохимических характеристик и уровней содержания элементов; оценены перспективы использования комплексного сравнительного анализа разных видов лишайников с применением спектроскопических методов.

Материалы и методы. Сбор материала проведен 21 августа 2018 г. в березовой аллее около стадиона в поселке Жарковский — 55°50'30.9" с.ш. 32°15'08.7" в. д. (Жарковский район Тверской обл.). Эта рекреационная зона испытывает незначительное антропогенное воздействие. Основные источни-

ки загрязнения — “Жарковский ДОК” (деревообрабатывающая отрасль) и транспортные объекты, расположенные на расстоянии около 1—2 км. Образцы всех видов лишайников (*H. tubulosa*, *H. physodes*, *P. sulcata* и *X. parietina*) собраны на коре одной старой особи березы повислой (*Betula pendula* Roth.). По каждому виду взято 7—10 образцов, всего изучено около 40 проб. Модельные виды различаются по степени чувствительности к антропогенному загрязнению и в пределах одной экологической ниши встречаются редко. Наиболее устойчива *X. parietina* [11, 12]. Весьма уязвима в урбоэкосистемах *H. tubulosa* [4]. Одновременно со сбором образцов лишайников в данном местобитании взяты пробы почвы. Их собирали методом конверта с глубины 2—20 см от поверхности согласно методике [13].

Физиолого-биохимические характеристики проанализированы в лаборатории природных антиоксидантов Института живых систем Балтийского федерального университета им. И. Канта по стандартным методикам [1, 3]. Спектрофотометрическим методом определено содержание хлорофиллов *a* и *b* (Хла, Хлб) [3, 14], общего азота (ОА) [14, 15], фенольных соединений (ФС) [16], оценена антиоксидантная активность (АОА) [17], рассчитан коэффициент феофитинизации (КФ) [14]. Дополнительно с помощью амперометрического метода выяснена антирадикальная активность (АРА) [18]. Термин АОА использован для активности, определенной амперометрическим методом, который позволяет измерять восстанавливающую способность антиоксидантов, АРА — для выявленной с помощью спектрофотометрического метода. Он дает возможность оценивать способность комплекса соединений, находящихся в экстракте, связывать свободные радикалы.

Спектрофотометрический метод определения АРА (мг-экв. аскорбиновой кислоты/г) основан на взаимодействии антиоксидантов со стабильным хромоген-радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH) [19]:

$$\% \text{ ингибирования} = [(A_{\text{конт}} - A_x) / A_{\text{конт}}] \cdot 100\%,$$

где A_x и $A_{\text{конт}}$ — оптическая плотность исследуемого раствора и контрольного образца.

Элементный состав (макро- и микроэлементы, тяжелые металлы и металлоиды (ТМ)) образцов лишайников и почвенных проб выявлен с помощью АЭС-ИСП-спектрометра iCAP 6300 Duo (Thermo Scientific, США) по стандартной методике в лаборатории биотехнологических измерений Тверского государственного университета [1, 3, 20]. Полученные концентрации элементов в образцах лишайников сравнили с фоновыми значениями для Тверского региона [21], в пробах почвы — с ПДК химических веществ в почве [22, 23].

Для выявления характера аккумуляции элементов сопоставлены уровни их накопления в талломах лишайников и почве. Рассчитан индекс соотношения (ИС) уровней накопления элемента как отношение содержания металла в образце лишайника к концентрации этого элемента в почве [23, 24]. Выделены следующие типы соотношения уровней накопления: элемент накапливается только в одном из объектов (в талломах лишайников либо в почве) (ИС = 0); более активная аккумуляция элемента в почве (концентрация в талломах ниже содержания в почве) ($0 < \text{ИС} < 1$); более активное накопление элемента в лишайнике (концентрация в талломах выше содержания в почве) (ИС > 1).

Статистическая обработка данных и определение параметров (числа проб конкретной выборки, среднего значения, стандартного отклонения, коэффициентов вариации и корреляции Пирсона, *t*-критерия Стьюдента, А-NOVA с критерием Тьюки (HSD) и др.) проведены с помощью стандартных методов математической статистики и использованием лицензионных программных продуктов Microsoft Office Excel 2013 и IBM SPSS Statistics 23.

Результаты и их обсуждение. Физиолого-биохимические характеристики. В образцах изученных видов лишайников содержание Хла выше ($p \leq 0.05$), чем Хлб (табл. 1), что согласуется с данными [3, 23, 25]. Вариабельность содержания Хла (от 0.71 до 1.35 мг/г) существенно выше, чем Хлб (от 0.29 до 0.38 мг/г). Кроме того, в [3, 23] показано, что Хла является более лабильным элементом фотосинтетической системы [3, 23].

Выявлены существенные различия в содержании пигментов у сравниваемых видов, которые свидетельствуют о разном уровне функциональной активности фотосинтетической системы этих лишайников в анализируемом экотопе. В образцах *P. sulcata* среднее содержание Хла самое высокое (1.35 ± 0.26 мг/г, $p \leq 0.05$), Хлб — минимальное (0.29 ± 0.03 мг/г, $p \leq 0.05$). У этого вида максимальное суммарное содержание фотосинтетических пигментов (Хла + Хлб) = 1.63 мг/г, а среднее соотношение концентраций хлорофиллов Хла/Хлб = 4.7. Наиболее низкие средние концентрации Хла выявлены в образцах *H. Tubulosa* (0.72 ± 0.02 мг/г, $p \leq 0.05$) и *X. parietina* (0.71 ± 0.12 мг/г, $p \leq 0.05$).

Т а б л и ц а 1. Средние значения физиолого-биохимических характеристик у изученных видов лишайников

Вид лишайника	Хла, мг/г	Хлb, мг/г	КФ	ОА, %	ФС, мг/г	АОА, мг-экв. кверцетина/г	АРА, мг-экв. аскорб. к-ты/г
<i>Hypogymnia physodes</i>	0.99±0.03	0.38±0.01	0.96±0.04	0.380±0.004	16.57±0.13	0.870±0.05	13.01±0.24
<i>Parmelia sulcata</i>	1.35±0.26	0.29±0.03	0.87±0.04	0.228±0.010	5.01±0.23	0.091±0.014	3.74±0.24
<i>Hypogymnia tubulosa</i>	0.72±0.02	0.31±0.02	0.98±0.01	0.274±0.018	15.43±0.15	0.667±0.073	10.52±0.45
<i>Xanthoria parietina</i>	0.71±0.12	0.31±0.17	1.31±0.01	0.397±0.029	0.00	0.031±0.004	1.09±0.14

Наиболее высокое содержание Хлb отмечено в образцах *H. physodes* (0.38 ± 0.01 мг/г, $p \leq 0.05$). Однако в целом показатели содержания хлорофиллов для *P. sulcata*, *X. parietina* и *H. physodes* находятся в пределах значений для этих видов в фоновых условиях (рис. 1) [2, 23, 26—29]. Полученные данные могут свидетельствовать об отсутствии значимого загрязнения среды в анализируемой рекреационной зоне.

Интенсивность деградации компонентов пигментной системы отражает КФ, который варьирует от 0.87 ± 0.04 у *P. sulcata* до 1.31 ± 0.01 у *X. parietina* (рис. 2) и соответствует фоновым показателям для этих видов [23, 28]. Пигментный фонд лишайников связан с их азотным потенциалом. Азот составляет 6.27 % молекулярной массы хлорофилла [26]. Концентрации ОА у сравниваемых видов также в пределах фоновых значений от 0.23 ± 0.01 % ($p \leq 0.05$) у *P. sulcata* до 0.39 ± 0.03 % ($p \leq 0.05$) у *X. parietina* (рис. 2) [28, 29].

Лишайники синтезируют различные вторичные метаболиты, которые представляют собой ФС с высоким антиоксидантным потенциалом [9, 30—32], предохраняющие от повреждающего действия УФ-излучения и света высокой интенсивности и участвующие в детоксикации металлов с образованием комплексов с катионами металлов [12, 33]. В связи с этим содержание ФС, АОА, АРА можно рассматривать как показатели, связанные с защитными механизмами и уровнем толерантности. Для изученных видов выявлены существенные различия по этим характеристикам (табл. 1).

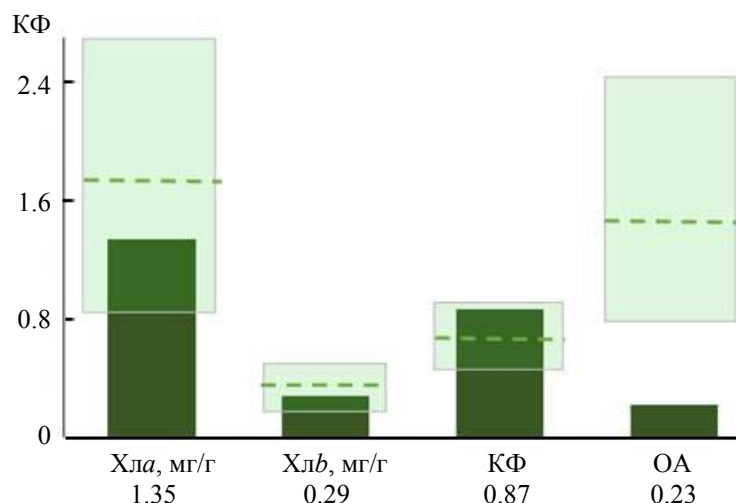


Рис. 1. Средние значения концентраций пигментов (хлорофиллов *a* и *b*), КФ и ОА в образцах *P. sulcata* из Тверской и Калининградской областей: □ — диапазон значений в фоновых условиях в Калининградской области [29]; — — — средние значения параметров

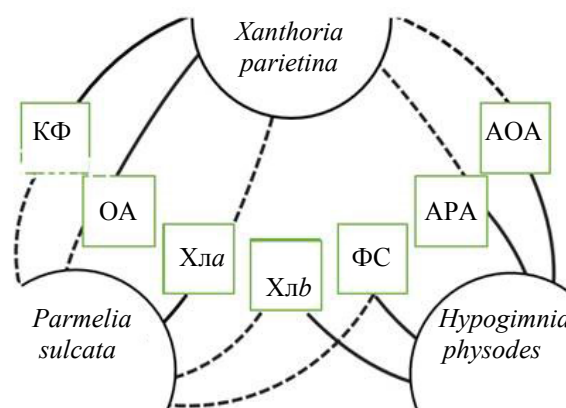


Рис. 2. Характер распределения максимальных (сплошная линия) и минимальных (штриховая) значений физиолого-биохимических показателей у изученных видов лишайников

В образцах *X. parietina* ФС не выявлены, так как у этого вида из соединений поликетидного происхождения образуются только антрахиноны [10, 34]. У прочих видов, которые синтезируют депсиды и депсидоны [10, 34—36], содержание ФС сильно различается. Их высокие концентрации четко выделяют виды рода *Hypogymnia*: *H. physodes* 16.57 ± 0.13 мг/г, *H. tubulosa* 15.43 ± 0.15 мг/г (табл. 1), что согласуется с данными [10, 35, 37]. Низкое содержание ФС обнаружено у *P. sulcata*: 5.01 ± 0.23 мг/г. Большие концентрации ФС у представителей рода *Hypogymnia* обусловлены значительным содержанием физодовой кислоты [10, 34]. Специфическими депсидонами *P. sulcata* являются салазиновая и консалазиновая кислоты [34—36].

Депсидоны и антрахиноны обладают выраженной антиоксидантной и антирадикальной активностью и участвуют в защитных реакциях [10, 32, 38]. От АОА и АРА зависит степень толерантности лишайников к изменениям состояния среды, в том числе связанным с загрязнением тяжелыми металлами [39]. Высокий уровень антиоксидантной защиты выявлен у *H. physodes*: АОА = 0.87 ± 0.05 мг-экв. кверцетина/г; АРА = 13.01 ± 0.24 мг-экв. аскорбиновой кислоты/г (табл. 1). Значительный антиоксидантный потенциал видов рода *Hypogymnia* по сравнению с другими лишайниками отмечен в [35, 37, 40]. Наиболее низкая активность антиоксидантов обнаружена в образцах *X. parietina*: АОА = 0.030 ± 0.004 мг-экв. кверцетина/г; АРА = 1.09 ± 0.14 мг-экв. аскорбиновой кислоты/г.

Результаты корреляционного анализа позволяют сопоставить уровни взаимосвязи физиологических характеристик у разных видов. Наименьшее число значимых корреляционных связей между физиолого-биохимическими показателями выявлено у *X. parietina* (7), максимальное — у *P. sulcata* (15) (рис. 3). Физиолого-биохимические показатели изученных видов в разной степени связаны между собой, при этом существенную координирующую роль выполняет фотосинтетическая система. Больше всего значимых связей выявлено с уровнем содержания фотосинтетических пигментов. У *H. tubulosa*, *P. sulcata* и *X. parietina* отмечена четкая взаимосвязь концентраций Хла и Хлb. У каждого из четырех видов обнаружены значимые прямые или обратные связи содержания хлорофиллов с КФ. Прочие существенные связи и взаимозависимости в большей степени специфичны и могут быть обусловлены различиями в механизмах обеспечения толерантности, от которых зависит уровень уязвимости сравниваемых видов.

Характеристики фотосинтетической системы в разной степени коррелируют с количественными параметрами системы защиты. У каждого вида независимо от уровня толерантности отмечены значимые связи концентраций хлорофиллов с АОА, у *H. physodes* и *H. tubulosa* еще и с АРА. Однако количество, характер и сила этих связей различаются. Максимальная взаимосвязь различных физиолого-биохимических характеристик, наиболее высокая скоординированность и целостность системы корреляционных связей выявлены у *P. sulcata* (рис. 3). У этого вида отмечено 15 значимых связей. Некоторые из них (ОА–Хла, АОА–Хлb, АОА–КФ, АОА–ФС) обнаружены также у среднеустойчивых и чувствительных к антропогенной нагрузке видов рода *Hypogymnia* (*H. physodes*, *H. tubulosa*), а часть сходных взаимозависимостей (АОА–Хла, АОА–ОА) проявляется также у *X. parietina* — лишайника, толерантного к интенсивной солнечной инсоляции и загрязнению. У изученных лишайников отличается характер связи АРА с другими показателями. *P. sulcata* — единственный вид, у которого не выявлено никаких значимых корреляций АРА с прочими физиолого-биохимическими харак-

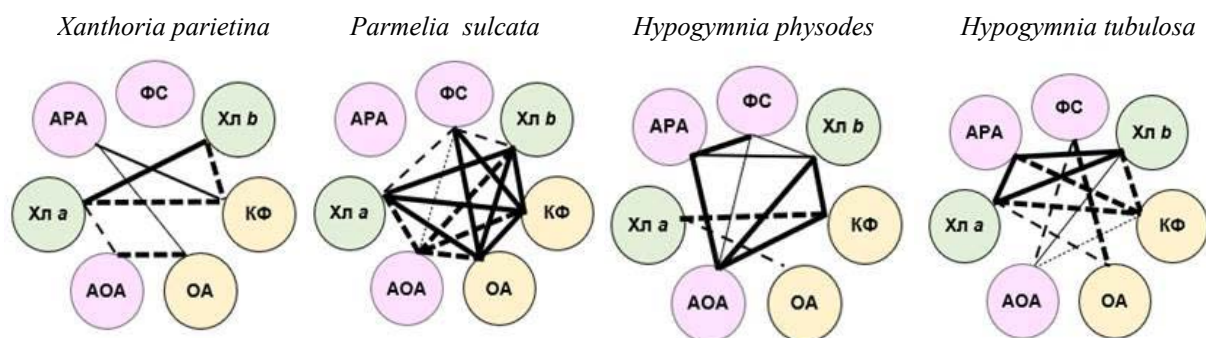


Рис. 3. Корреляционные связи между физиолого-биохимическими характеристиками образцов лишайников: прямые ($r > 0.9$ (—) и $0.8 < r < 0.9$ (---)) и обратные ($-1 < r < -0.9$ (· · ·) и $-0.9 < r < -0.8$ (- · - ·))

теристиками. У других видов АРА коррелирует с различными показателями. У видов рода *Hypogymnia* проявляется четкая взаимосвязь АРА с фотосинтетической системой (*H. physodes* — АРА–ФС, АРА–ОАО, АРА–Хлb; *H. tubulosa* — АРА–Хла, АРА–Хлb, АРА–КФ). У *X. parietina* АРА скоординирована с пигментной системой через связи с КФ.

Таким образом, физиолого-биохимические показатели у четырех видов лишайников в условиях одного местообитания существенно различаются, хотя все параметры близки к фоновым. Выявлены существенные различия по характеру связи и степени скоординированности физиологических характеристик. В этом отношении в большей степени различаются виды, у которых в качестве вторичных метаболитов синтезируются антрахиноны (*X. parietina*). Максимальная взаимосвязь физиологических характеристик и целостность системы корреляционных зависимостей выявлены у *P. sulcata*, в защитных реакциях которой участвуют салазиновые кислоты.

Т а б л и ц а 2. Средние концентрации элементов в образцах лишайников и в почвенных пробах, мг/кг

Элемент	Вид лишайника				Концентрация			Почва
	<i>X. parietina</i>	<i>P. sulcata</i>	<i>H. physodes</i>	<i>H. tubulosa</i>	максимальная	минимальная	средняя	
Al	1406.9±11.3	670.1±5.4	583±4.7	505±7.1	1406.9	505	791.2	4638±64.9
As	1.65±0.01	7.19±0.06	—	0.72±0.01	7.19	—	2.39	11.14±0.09
Cd	0.23±0.01	0.46±0.01	0.55±0.00	2.45±0.02	2.45	0.23	0.92	0.08±0.01
Cr	6.53±0.05	3.93±0.03	4.05±0.03	3.74±0.03	6.53	3.74	4.56	18.56±0.15
Pb	1.88±0.01	1.93±0.01	3.56±0.02	5.23±0.04	5.23	1.88	3.15	1.78±0.01
Sn	16.73±0.13	7.1±0.06	4.8±0.04	3.3±0.03	16.73	3.3	7.98	58.76±0.47
Sr	10.26±0.08	26.25±0.21	16.56±0.13	50.01±0.4	50.01	10.26	25.77	12.68±0.10
V	2.86±0.02	1.84±0.01	1.48±0.01	1.23±0.01	2.86	1.23	1.85	4.78±0.04
Ti	68.22±0.82	40.38±0.48	36.21±0.43	33.07±0.40	68.22	33.07	44.47	166.8±2.01
W	5.82±0.05	10.91±0.09	11.1±0.09	16.49±0.13	16.49	5.82	11.08	1.18±0.01
K	2001±16.0	1932±15.5	1162±9.3	1276±10.2	2001	1162	1593	344±2.8
Ca	2110±17	9544±76	7261±58	41347±662	41347	2110	15065	1058±17
Mg	1198±10.5	1529±13.5	801±7.0	700±6.2	1529	700	1057	502±4.4
Na	34.60±0.30	30.25±0.27	23.99±0.21	24.97±0.22	34.60	23.99	28.45	14.84±0.13
B	6.3±0.06	7.9±0.07	3.4±0.03	2.83±0.02	7.93	2.83	5.13	—
Ba	28.02±0.25	26.17±0.23	26.17±0.23	26.3±0.23	28.02	26.17	26.67	20.7±0.18
Cu	3.47±0.03	4.36±0.03	3.14±0.03	2.66±0.2	4.36	2.66	3.40	1.42±0.01
Fe	1502.3±13.5	746.7±6.7	642.8±5.8	565.5±5.1	1502.3	565.5	864	4466±40.2
Mn	82.63±0.7	421.53±3.4	594.87±4.8	816±6.5	816	82.63	478	80±0.6
Mo	0.13±0.02	0.08±0.01	0.13±0.01	0.04±0.00	0.13	0.04	0.09	0.04±0.01
Zn	1074±1.06	202±2.08	192±2.5	211.9±2.75	211.9	107.4	178.3	39.4±0.51

Элементный состав. С помощью АЭС-ИСП-анализа в образцах лишайников обнаружены 22 элемента: макро- (Ca, K, Mg, Na), микроэлементы (B, Ba, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn), тяжелые и потенциально токсичные металлы и металлоиды (Al, As, Cd, Cr, Pb, Sn, Sr, Ti, V, W) (табл. 2) [1]. В почвенных пробах, взятых с местообитания лишайников, отмечен тот же состав элементов, за исключением бора. В дерново-подзолистых почвах бор фиксируется слабо и может вымываться осадками. Состав выявленных элементов у изученных видов идентичен, но в образцах *H. physodes* не обнаружен мышьяк. Однако концентрации элементов у изученных видов различны. В образцах устойчивой к антропогенному загрязнению *X. parietina* зарегистрированы максимальные содержания многих элементов (Al, Ba, Cr, Fe, K, Na, Mo, Sn, Ti, V). В образцах *H. tubulosa* — наиболее уязвимого в условиях антропогенного воздействия среди изученных лишайников вида — для большинства элементов (Al, B, Cr, Cu, Fe, Mg, Mo, Sn, Sr, Ti, V) отмечены минимальные концентрации. У *H. tubulosa* зарегистрировано также высокое содержание кальция, марганца и цинка, обнаружены токсичные элементы — кадмий, свинец и вольфрам [4]. Высокие концентрации кальция способствуют снижению токсичности кадмия у видов рода *Hypogymnia* [41].

Расчет ИС уровней накопления элементов в талломах лишайников и почве позволяет сгруппировать элементы в зависимости от характера накопления (табл. 3) [1]. Первый тип характерен для двух элементов (As, B), второй — для шести (Al, Cr, Fe, Sn, Ti, V), третий — для 11 (Ba, Ca, Cd, Cu, K, Mg, Mn, Na, Pb, Zn, W). Для некоторых элементов третьей группы отмечена значительная амплитуда варьирования ИС: кальций от 6.86 до 39.06; кадмий от 2.88 до 30.63; вольфрам от 4.93 до 13.97; марганец от 1.03 до 10.16.

Наиболее контрастны различия в характере поглощения и накопления многих элементов (12) у видов, которые существенно различаются по степени толерантности к загрязнению. У высокоустойчивого в урбоэкосистемах лишайника *X. parietina* выявлены минимальные ИС для Ca, Cd, Mn, Pb, Sr, Zn и максимальные для Al, Cr, Fe, Sn, Ti, V (рис. 4). У наиболее уязвимого среди изученных

Т а б л и ц а 3. Индексы соотношения уровней накопления элементов в талломах лишайников и почве

Вид лишайника	ТМ										Макроэлементы				Микроэлементы					
	Al	As	Cd	Cr	Pb	Sn	Sr	V	Ti	W	K	Ca	Mg	Na	Ba	Cu	Fe	Mn	Mo	Zn
<i>X. parietina</i>	0.30	0.15	2.88	0.35	1.06	0.28	0.81	0.60	0.41	4.93	5.80	1.99	2.39	2.33	1.35	2.44	0.34	1.03	3.25	2.73
<i>P. sulcata</i>	0.14	0.65	5.75	0.21	1.08	0.12	2.07	0.38	0.24	9.25	5.60	9.02	3.05	2.04	1.26	3.07	0.17	5.25	2.00	5.13
<i>H. physodes</i>	0.13	—	6.88	0.22	2.00	0.08	1.31	0.31	0.22	9.41	3.37	6.86	1.60	1.62	1.26	2.21	0.14	7.41	3.25	4.87
<i>H. tubulosa</i>	0.11	0.06	30.63	0.20	2.94	0.06	3.94	0.26	0.20	13.97	3.70	39.06	1.39	1.68	1.27	1.87	0.13	10.16	1.00	5.38

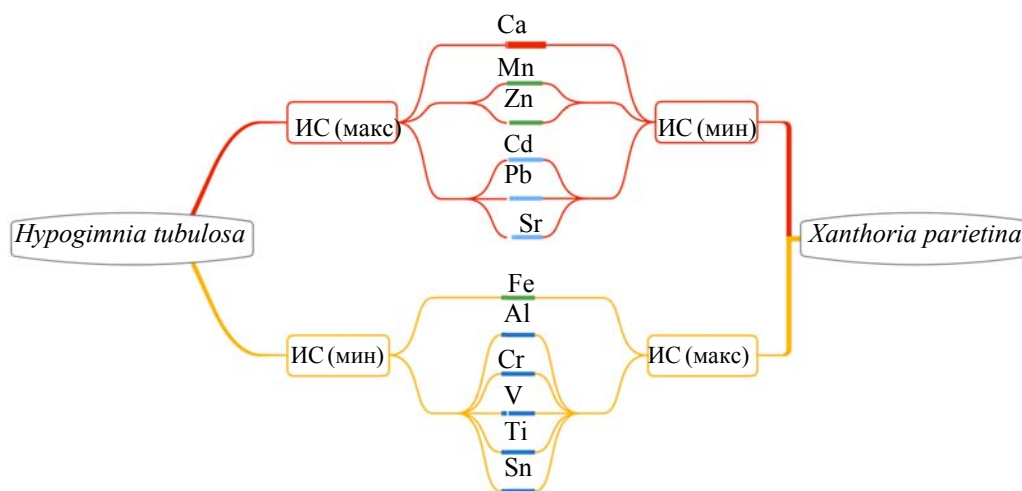


Рис. 4. Распределение максимальных и минимальных ИС для некоторых элементов у *H. tubulosa* и *X. parietina*

лишайников вида *H. tubulosa* распределение минимальных и максимальных ИС для отмеченных металлов обратное. У этих видов существенно различаются составы вторичных метаболитов, обеспечивающих толерантность, а также характер защитных реакций. Париетин у *X. parietina* способствует детоксикации кадмия, атранорин *H. tubulosa* не препятствует его аккумуляции [42].

С помощью корреляционного анализа выявлено много значимых прямых и обратных связей ($0.7 \leq r \leq 1.0$; $-1 \leq r \leq -0.7$) между уровнями содержания элементов в образцах лишайников. Наибольшее их количество обнаружено у *X. parietina* (252), наименьшее — у *H. physodes* (224). Среди макроэлементов максимальный уровень скоррелированности с другими элементами отмечен для кальция, калия и магния (по 15 значимых связей). Среди микроэлементов выделяется цинк (17), а из ТМ — алюминий, мышьяк, кадмий и стронций (по 15). Больше всего элементов с максимальным количеством значимых связей выявлено у *X. parietina* (8 элементов) и *P. sulcata* (9) (рис. 5).

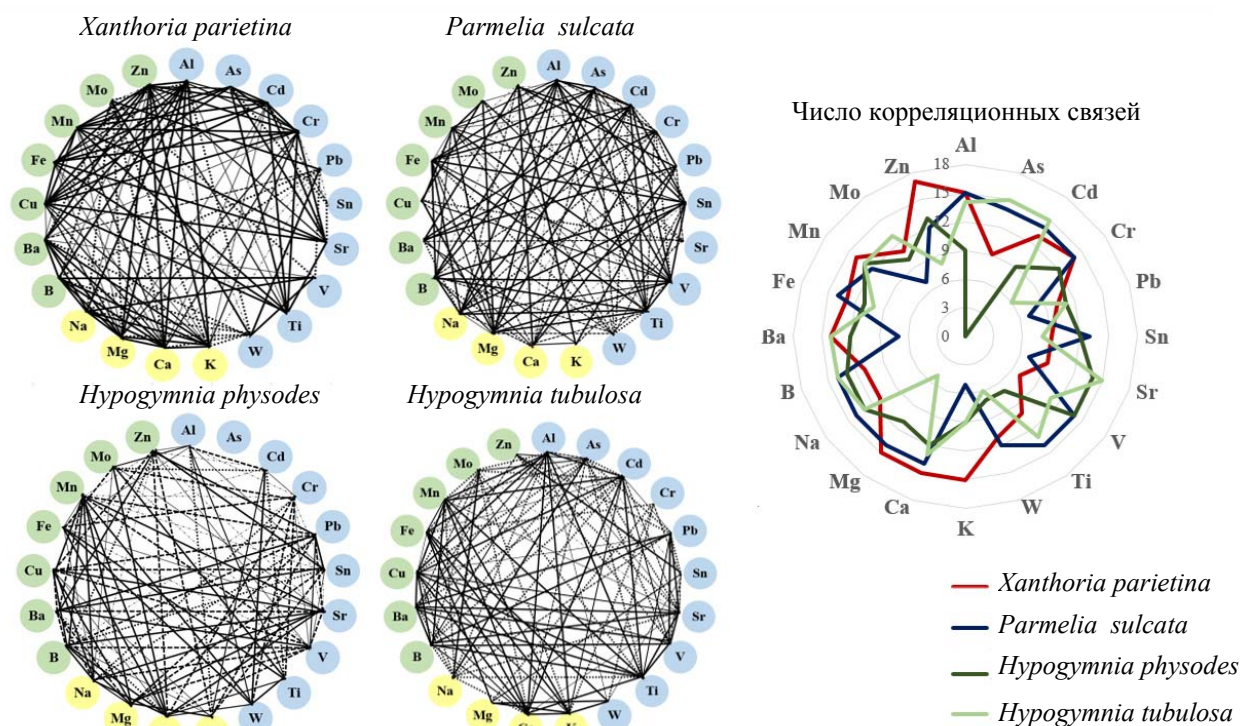


Рис. 5. Значимые корреляционные взаимосвязи между уровнями содержания элементов в образцах лишайников: прямые $0.7 \leq r \leq 1.0$ (сплошные линии); обратные $-1 \leq r \leq -0.7$ (пунктир)

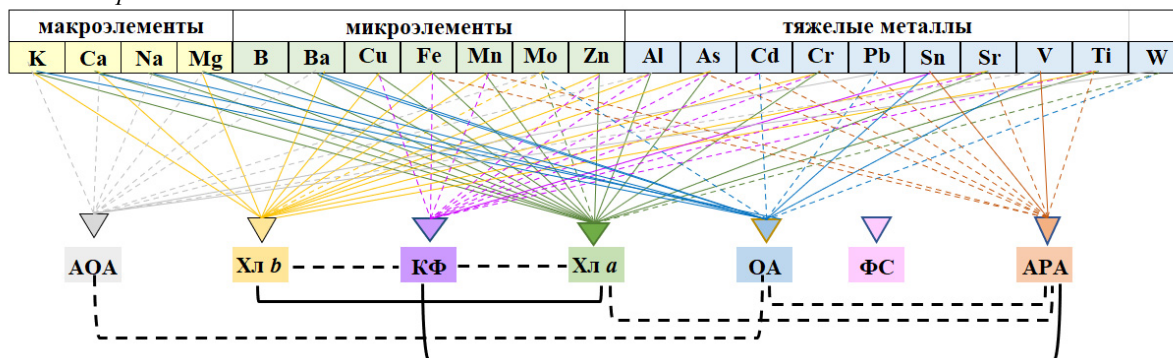
Таким образом, наиболее специфична по характеру поглощения элементов и степени скоррелированности уровней их содержания в талломе *X. parietina*, в защитных реакциях которой участвуют антрахиноны. У лишайников, обеспечение толерантности которых связано с депсидонами [10, 34—36], различаются виды, способные или не способные синтезировать салазиновые и физодаловые кислоты. В условиях слабого антропогенного воздействия максимальные концентрации большинства элементов отмечены у *X. parietina*, минимальные у *H. tubulosa*. Однако у *H. tubulosa* обнаружена высокая накопительная способность по отношению к кальцию (ИС = 39.06) и кадмию (ИС = 30.63), между содержанием которых установлена сильная корреляционная зависимость.

Физиолого-биохимические характеристики и уровни содержания элементов. Анализ взаимозависимости физиолого-биохимических показателей, элементного состава и уровней содержания металлов позволил выявить у каждого вида сложные системы корреляционных связей. Характеристики состояния фотосинтетической системы (Хла, Хлб, КФ, ОА) коррелируют с концентрацией разных элементов (рис. 6). Особую роль в этих взаимосвязях играет Хла. У всех изученных видов его концентрация коррелирует с содержанием таких микроэлементов, как барий, медь, марганец и молибден. Значимые связи параметров фотосинтетической системы с содержанием меди, марганца и молибдена

также отмечены в [43]. Магний входит в состав молекул хлорофилла [44]. Координирующая роль Хлb выражена слабее, что проявляется в меньшем по сравнению с Хла количестве взаимосвязей с концентрациями элементов.

Наиболее высокая степень скоррелированности характеристик фотосинтетической системы с элементным составом выявлена у *X. parietina* и *H. tubulosa*, которые существенно различаются по накопительным способностям. Для этих видов отмечено большее количество значимых взаимосвязей физиологических показателей с уровнями содержания элементов. По каждому показателю таких связей больше десяти (рис. 6): у *X. parietina* — Хла 17, Хлb 13, КФ 13, ОА 12; у *H. tubulosa* — Хла 15, Хлb 12, КФ 12, ОА 15. Для этих видов характерна высокая взаимозависимость параметров пигментной системы. У них концентрации хлорофиллов (Хла и Хлb) и КФ связаны посредством сильных прямых ($r = 0.9$) и обратных ($-1 \leq r \leq -0.8$) связей. В целом сходен и состав элементов, содержание которых коррелирует с этими параметрами (рис. 7). Однако у *X. parietina* с характеристиками фотосинтетической системы коррелируют концентрации всех макроэлементов (Ca, K, Na, Mg), а среди коррелирующих с содержанием пигментов ТМ преобладают умеренно и мало опасные металлы (Al, Cr, Ti). У *H. tubulosa* с фотосинтетическими пигментами обнаруживают связи меньше макроэлементов (Ca–Хла, Na–Хла; Na–Хлb), а среди проявляющих значимые связи ТМ представлены токсичные элементы — мышьяк, кадмий и свинец.

Xanthoria parietina



Hypogymnia tubulosa

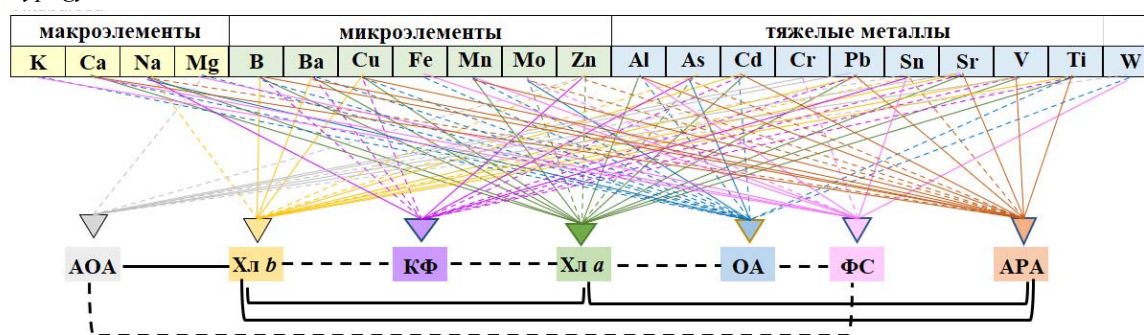


Рис. 6. Значимые корреляционные связи между физиолого-биохимическими характеристиками образцов *X. parietina* и *H. tubulosa* и уровнями содержания элементов: прямые $0.70 < r < 1$ (сплошные линии), обратные $-1 < r < -0.70$ (штриховые)

Представляет интерес анализ степени взаимосвязи элементного состава с физиолого-биохимическими показателями, которые связаны с защитными реакциями (ФС, АОА, АРА). У изученных видов она различна. Большее количество значимых связей отмечено для АРА, которая коррелирует с концентрацией многих элементов, в том числе токсичных металлов (кадмий, свинец, олово). Наибольшее количество взаимосвязей АРА с содержанием металлов выявлено у *H. tubulosa* и *P. sulcata* (16 для каждого вида). При этом уровни АРА существенно различаются (табл. 1). Состав

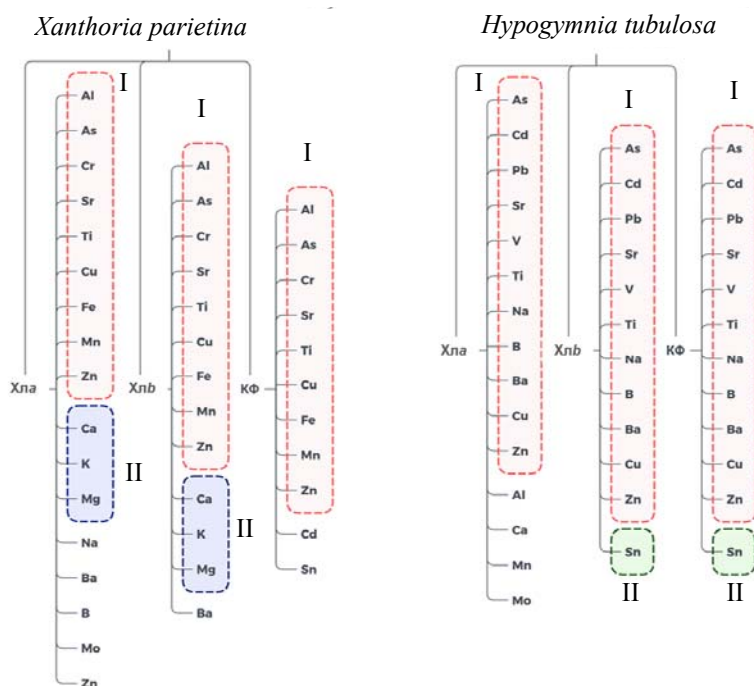


Рис. 7. Состав элементов, содержание которых проявляет значимые корреляционные связи с некоторыми физиолого-биохимическими показателями, у *X. parietina* и *H. tubulosa*: общие элементы, связанные с тремя (I — Хла-Хлб-КФ) и двумя (II — Хла-Хлб; Хлб-КФ) показателями

общих элементов, содержание которых коррелирует с АРА, у этих видов сходен (12 из 16 элементов) (рис. 8, а). Общими являются многие ТМ (Al, As, Cd, Pb, Sn, Ti, V), макро- (Ca, Na) и микроэлементы (B, Ba, Zn). У *H. tubulosa* АРА тесно связана с параметрами пигментной системы — Хла и Хлб ($r = 1$) и КФ ($r = -1$), поэтому содержание многих элементов, проявляющих связь с АРА, коррелирует с отмеченными характеристиками пигментной системы, среди них As, Cd, Cu, B, Ba, Na, Pb, Sr, Ti, V, Zn (рис. 8, б). В отличие от *H. tubulosa* для АРА у *P. sulcata* не отмечено никаких значимых связей с другими физиолого-биохимическими характеристиками. С уровнем АОА коррелирует содержание меньшего количества элементов. Общие для всех изученных видов элементы среди них отсутствуют. Больше всего связанных с АОА элементов (11) отмечено у *X. parietina*, которая имеет самую низкую по сравнению с другими видами АОА. Связь с АОА проявляют преимущественно микро- и макроэлементы (B, Ba, Ca, K, Mg, Mo, Na). Среди них много элементов, связанных с Хла ($r = -0.7$) и ОА ($r = -0.9$) (B, Ba, Ca, K, Mg, Mo, Na, W) (рис. 8, в). Содержание токсичных металлов, проявляющих связь с уровнем АОА (As, Cd, Pb), у *X. parietina* коррелирует также с АРА, которая только косвенно связана с пигментной системой посредством корреляции с КФ. Существенно более высокий по сравнению с другими лишайниками уровень АОА у видов рода *Hypogymnia* (*H. physodes*, *H. tubulosa*) сочетается с меньшим количеством связанных с этим показателем элементов. Однако среди них представлены токсичные металлы.

У всех изученных видов содержание ФС коррелирует с концентрациями алюминия и магния. Больше всего связанных с ФС элементов обнаружено у видов рода *Hypogymnia* у *H. tubulosa* — 10, у *H. physodes* — 9. Среди них есть токсичные металлы.

В целом анализ скоррелированности физиолого-биохимических характеристик и уровней содержания элементов свидетельствует о наличии сложной многокомпонентной системы корреляционных взаимосвязей у каждого вида. Она обеспечивает скоординированность процессов метаболизма, разных защитных и адаптивных реакций, специфичность которых обусловлена составом вторичных метаболитов и другими факторами. Толерантность вида — комплексная характеристика, которая интегрирует все многообразие защитных реакций и присущих каждому виду особенностей регуляции физиологических процессов. Направленность таких реакций может быть различна: предотвращение накопления опасных элементов, их детоксикация или обеспечение безопасного накопления [32, 38]. Сходный характер зависимости физиологических параметров только в некоторой степени определяет

общность корреляционных взаимосвязей с содержанием большей части элементов. Детальный анализ многообразия этих связей — перспективное направление исследований в области биомониторинга и экологической физиологии лишайников.

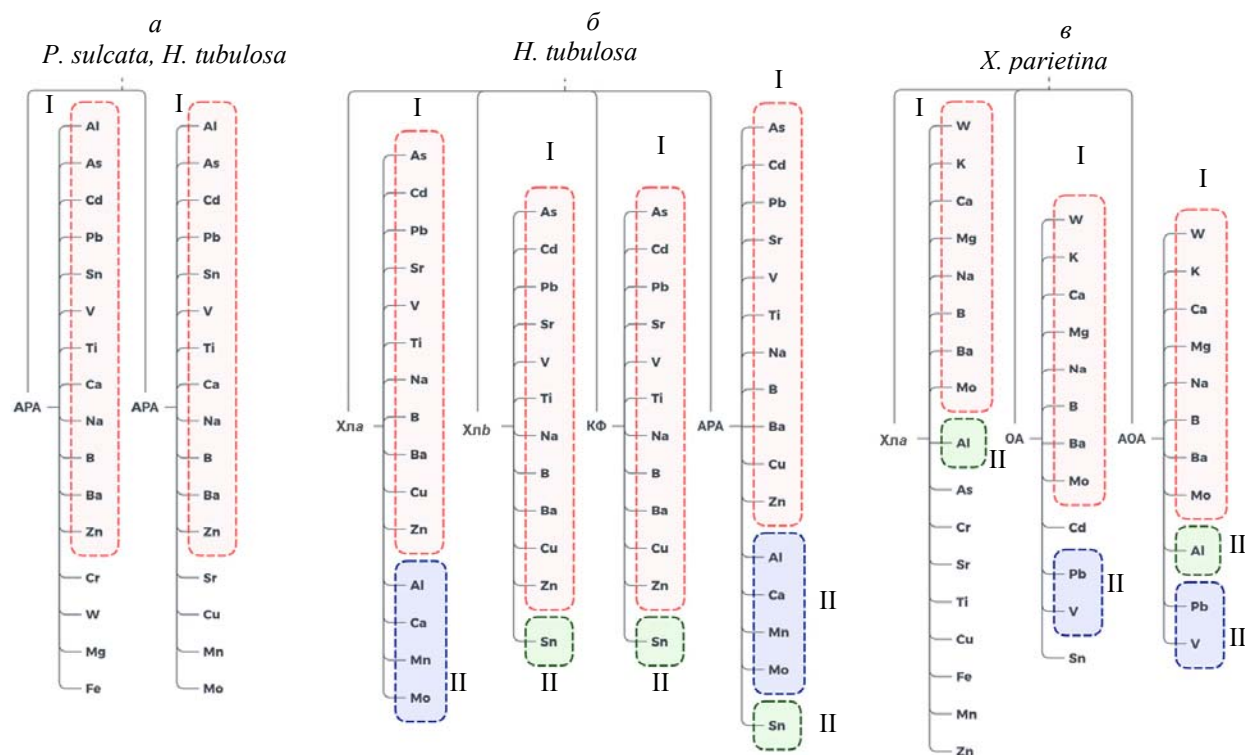


Рис. 8. Состав элементов, содержание которых проявляет значимые корреляционные связи с некоторыми физиолого-биохимическими показателями, у *X. parietina*, *H. tubulosa*, *P. sulcata*: общие элементы, связанные с четырьмя или тремя (I — Хла-Хлб-КФ-АРА, Хлб-КФ-АРА, Хла-ОА-АОА) и двумя (II — Хла-АРА, Хла-АОА, ОА-АОА) показателями

По степени скоррелированности физиологических характеристик и уровней содержания разных групп элементов более четко различаются виды, синтезирующие специфические типы вторичных метаболитов. Контрастно отличается система корреляционных связей между физиологическими параметрами и элементным составом у *X. parietina*, в защитных реакциях которой участвуют антрахиноны. Достаточно специфичны корреляционные взаимосвязи у видов, способных или неспособных синтезировать салазиновые и физодаловые кислоты [10, 34—36].

Перспективы развития комплексного анализа разных видов лишайников. Полученные результаты свидетельствуют о том, что широко используемые в биомониторинге достаточно устойчивые к антропогенным воздействиям виды лишайников (*H. physodes*, *X. parietina*, *P. sulcata*) могут существенно различаться с точки зрения экологической физиологии и поглощающей способности по отношению к разным элементам. Актуально развитие комплексного подхода, ориентированного на выявление взаимосвязи физиологических характеристик, и элементного с использованием методов оптической спектроскопии и амперометрии. Особого внимания заслуживает сравнительный анализ лишайников, представляющих собой разные систематические и экологические группы. Объектами таких исследований должны стать как толерантные, так и не устойчивые к загрязнению виды. Специальный интерес представляют лишайники, исчезающие не только в урбоэкосистемах, но и в лесных массивах, которые подвергаются фрагментации и хозяйственному использованию. Актуально сопоставление близкородственных видов с разной устойчивостью к антропогенному воздействию [4]. Оно может быть дополнено исследованиями наиболее уязвимых специализированных видов рода *Hypogymnia*, таких как *H. vittata* (Ach.) Pärtique. К *Hypogymnia* систематически близки и другие быстро исчезающие представители семейства Parmeliaceae, например *Menegazzia terebrata* (Hoffm.) A. Massal. На основе детального анализа с использованием предложенного подхода можно выявить

физиологические причины уязвимости редких видов и сопоставить механизмы адаптации к антропогенному стрессу. Особый интерес представляет выяснение роли вторичных метаболитов, АРА и АОО в обеспечении толерантности видов. В перспективе это позволит расширить набор индикаторных видов и проводить мониторинг с учетом механизмов реагирования живых систем на изменение условий природной среды. В экологической физиологии лишайников подобные исследования позволяют на качественно ином уровне изучать пластичность физиологических систем и процессов, оценивать целостность регуляторных систем.

Заключение. С помощью методов оптической спектроскопии и амперометрии у четырех видов лишайников, три из которых часто используют в биомониторинге, в одном местообитании при незначительной антропогенной нагрузке выявлены существенные различия в функциональной активности, характере взаимозависимости физиолого-биохимических показателей, их связи с элементным составом и уровнем поглощения металлов. Отмеченные физиолого-биохимические характеристики всех видов близки к фоновым показателям. Уровни активности фотосинтетической системы и параметры, связанные с функционированием защитной системы, различны. Эти системы в разной степени скоординированы. С позиции количества и силы корреляционных взаимосвязей наибольшей функциональной целостностью характеризуются *Parmelia sulcata*, *Hypogymnia tubulosa*. Однако отсутствие или наличие тесной взаимосвязи компонентов пигментной системы с параметрами защитной системы, в первую очередь с антирадикальной активностью, обуславливает разные адаптационные и индикаторные возможности этих видов. Более слабая по сравнению с другими видами скоррелированность физиологических характеристик у *X. parietina* сочетается с высокой устойчивостью к загрязнению. Это свидетельствует о специфике механизмов адаптации у лишайников, синтезирующих антрахиноны.

С помощью атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой в талломах лишайников обнаружены 22 элемента, в том числе макро- и микроэлементы, а также тяжелые металлы и металлоиды. Максимальные различия по содержанию металлов выявлены у *X. parietina* и *H. tubulosa*. Анализ взаимозависимостей физиолого-биохимических характеристик, элементного состава и уровней содержания металлов позволяет выявить у каждого вида сложные системы корреляционных связей. Различия в их структуре могут быть связаны со спецификой состава вторичных метаболитов, от которого зависят характер адаптивных реакций и степень толерантности видов.

Сравнительное изучение лишайников с разной толерантностью к антропогенному воздействию, основанное на комплексном анализе физиолого-биохимических характеристик и элементного состава с использованием различных спектрометрических методов, способствует развитию биоиндикации и экологической физиологии лишайников.

Авторы выражают благодарность Минобрнауки РФ за поддержку ЦКП “Гербарий ГБС РАН”.

- [1] А. Ф. Мейсуро́ва, А. А. Нотов, А. В. Пунгин, Л. Н. Скрыпник. Журн. прикл. спектр., **87**, № 5 (2020) 816—827 [A. F. Meysurova, A. A. Notov, A. V. Pungin, L. N. Skrypnik. J. Appl. Spectr., **87**, N 5 (2020) 877—887]
- [2] С. Е. Журавлёва, Ле Тхи Бич Нгует, П. В. Бондаренко, Э. М. Трухан. Биофизика, **62**, № 4 (2017) 807—814
- [3] А. Ф. Мейсуро́ва, А. А. Нотов, А. В. Пунгин. Журн. прикл. спектр., **84**, № 6 (2017) 961—968 [A. F. Meysurova, A. A. Notov, A. V. Pungin. J. Appl. Spectr., **84**, N 6 (2018) 1037—1043]
- [4] А. Ф. Мейсуро́ва, А. А. Нотов. Полевой журн. биолога, **3**, № 1 (2021) 64—73
- [5] B. Balabanova, T. Stafilov, R. Sajin, K. Baeeva. Int. J. Environ. Res., **6**, N 3 (2012) 779—792
- [6] A. Parzych, A. Zduńczyk, A. Astel. J. Elementol., **21**, N 3 (2016) 781—795
- [7] M. Backor, S. Loppi. Biol. Plantarum, **53**, N 2 (2009) 214—222
- [8] J. Piovar, M. Weidinger, M. Backor, M. Backorova, I. Lichtscheidl. Ecotoxicol. Environ. Saf., **145** (2017) 408—419
- [9] G. Laska, S. Kiercul, A. Piotrowska-Niczyporuk, M. Jacob, D. Pasco. Planta Med., **82**, N 1 (2016) 262
- [10] G. Stojanovic, I. Zlatanovic, I. Zrnzevic, M. Stankovic, V. S. Jovanovic, B. Zlatkovic. Natur. Product Res., **32**, N 22 (2018) 2735—2739
- [11] A. Dzubaj, M. Backor, J. Tomko, E. Peli, Z. Tuba. Ecotoxicol. Environ. Saf., **70**, N 2 (2007) 319—326
- [12] I. Bil’ova, M. Goga, M. Backor. Botanica Serb., **43**, N 2 (2019) 142—133

- [13] ГОСТ 17.4.4.02-2017. Межгосударственный стандарт. Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа, Москва, Стандартинформ (2018) (введен в действие приказом Росстандарта от 17.04.2018 N 202-ст)
- [14] **J. D. Barnes, L. Balaguer, E. Manrique, S. Elvira, A. W. Davison.** *Environ. Experim. Botany*, **32**, N 2 (1992) 85—100
- [15] **О. Л. Воскресенская, Е. А. Алябышева, М. Г. Половникова.** Большой практикум по биоэкологии, ч. 1, Йошкар-Ола, Мар. гос. ун-т (2006)
- [16] **A. Khadhri, M. Mendili, M. E. M. Araújo, M. R. Seaward.** *Symbiosis*, **79**, N 1 (2019) 25—31
- [17] **A. Y. Yashin.** *Russ. J. Gen. Chem.*, **78**, N 12 (2008) 2566—2571
- [18] **N. Aoussar, N. Rhallabi, R. A. Mhand, R. Manzali, M. Bouksaim, A. Douira, F. Mellouki.** *J. Saudi Soc. Agric. Sci.*, **19**, N 1 (2020) 1—6
- [19] **E. Ahmed, W. Elkhateeb, H. Taie, M. Rateb, W. Fayad.** *J. Appl. Pharm. Sci.*, **7**, N 1 (2017) 98—103
- [20] ПНДФ 16.1:2.3:3.11-98. Количественный химический анализ почв. Методика выполнения измерений содержания металлов в твердых объектах методом спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой, Москва, Государственный комитет РФ по охране окружающей среды (2005)
- [21] **А. Ф. Мейсуро́ва, А. А. Нотов.** *Журн. прикл. спектр.*, **83**, № 5 (2016) 794—802 [**A. F. Meysurova, A. A. Notov.** *J. Appl. Spectr.*, **83**, N 5 (2016) 832—839]
- [22] ГН 2.1.7.2041-06. Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в почве (2006)
- [23] **А. Ф. Мейсуро́ва, А. А. Нотов.** *Журн. прикл. спектр.*, **87**, N 1 (2020) 96—106 [**A. F. Meysurova, A. A. Notov.** *J. Appl. Spectr.*, **87**, N 1 (2020) 83—91]
- [24] **Л. Н. Анищенко, В. Н. Шапурко, Е. А. Сафранкова.** *Фундамент. исслед.*, **9** (2014) 1527—1531
- [25] **A. Demirbas.** *Energy Sour.*, **26**, N 5 (2004) 499—506
- [26] **Т. К. Головки, О. В. Дымова, Г. Н. Табаленкова, Т. Н. Пыстина.** *Теор. и прикл. экология*, **4** (2015) 38—44
- [27] **О. М. Храмченкова.** *Бюл. науки и практики*, **3** (2017) 68—77
- [28] **Ле Тхи Бич Нгуен.** Биофизические основы реакции лишайников на физико-химическое воздействие внешней среды, дис. ... канд. физ.-мат. наук, Московский физико-технический институт, Долгопрудный (2017)
- [29] **А. В. Пунгин.** Геоэкологическая оценка состояния атмосферного воздуха города Калининграда методом лишеноиндикации, дис. ... канд. геогр. наук, Калининград (2019)
- [30] **B. Rankoviü, D. Rankoviü, D. Mariü.** *Microbiology*, **79** (2010) 809—815
- [31] **А. И. Щербакова.** *Вестн. Поволж. гос. технол. ун-та. Сер. Лес. Экология. Природопользование*, **4** (40) (2018) 75—84
- [32] **M. Goga, J. Elečko, M. Marcinčinová, D. Ručová, M. Bačkorová, M. Bačkor.** In: *Co-Evolution of Secondary Metabolites*, Eds. J. M. Mérillon, K. Ramawat, Springer, Cham (2020) 175—209
- [33] **S. T. Behmer, S. J. Simpson, D. Raubenheimer.** *Ecology*, **83** (2002) 2489—2501
- [34] **T. H. Nash III, B. D. Ryan, P. Diederich, C. Gries, F. Bungartz.** *Lichen Flora of the Greater Sonoran Desert, 1-2*, Tempe, Lichens Unlimited, Arizona State University (2002)
- [35] **B. Rankovic, M. Kosanic, N. Manojlovic, A. Rancic, T. Stanojkovic.** *Med. Chem. Res.*, **23**, N 1 (2014) 408—416
- [36] **O. A. Kyslychenko, V. V. Protska, I. O. Zhuravel.** *Pharmacia*, **66**, N 4 (2019) 161—164
- [37] **M. Kosanic, B. Rankovic, J. Vukojevic.** *J. Food Sci. Technol.-Mysore*, **48**, N 5 (2011) 584—590
- [38] **T. H. Nash III.** *Lichen Biology*, Cambridge, Cambridge University Press (2008) 234—251
- [39] **J. R. Exposito, E. Barreno, M. Catala.** In: *Lead in Plants and the Environment*, Eds. D. K. Gupta, S. Chatterjee, C. Walther, Springer, Cham (2020) 149—170
- [40] **T. Mitrovic, S. Stamenkovic, V. Cvetkovic, I. Radojevic, M. Z. Mladenovic, M. Stankovic, M. D. Topuzovic, I. D. Radojevic, O. D. Stefanovic, S. M. Vasic, L. R. Comic, D. S. Seklic, A. D. Obradovic, S. D. Markovic.** *Oxidation Commun.*, **38**, N 4, SI (2015) 2016—2032
- [41] **J. Kovacik, S. Dresler, P. Babula, J. Hladky, I. Sowa.** *Plant Physiol. Biochem.*, **156** (2020) 591—599
- [42] **R. Kalinowska, M. Backor, B. Pawlik-Skowronska.** *Ecol. Indicators*, **58** (2015) 132—138
- [43] **M. K. Chettri, C. M. Cook, E. Vardaka, T. Sawidis, T. Lanaras.** *Environ. Exp. Botany*, **39**, N 1 (1998) 1—10
- [44] **J. Garty, Y. Karary, J. Harel.** *Archiv. Environ. Cont. Toxic.*, **24**, N 4 (1993) 455—460