

**КОМПЛЕКСНЫЙ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛИШАЙНИКА
Hypogymnia physodes В РАЗНЫХ ФИТОЦЕНОЗАХ****А. Ф. Мейсурова^{1*}, А. А. Нотов¹, А. В. Пунгин², Л. Н. Скрыпник²**

УДК 574.24+582.29+504.054:546.3

¹ Тверской государственный университет,
170100, Тверь, Россия; e-mail: alexandrauraz@mail.ru² Балтийский федеральный университет им. И. Канта,
236041, Калининград, Россия

(Поступила 1 апреля 2020)

Изучены физиологические и биохимические показатели, элементный состав образцов *Hypogymnia physodes* из разных фитоценозов, в которых лишайник находится в условиях различных режимов освещения и влажности воздуха. При выраженном затенении в ельнике в талломах *H. physodes* выявлены существенное увеличение содержания хлорофилла *a* и общего азота, максимальный коэффициент феофитинизации и минимальная концентрация фенольных соединений. При ярком освещении в березняке и сосняке большинство этих показателей приобретают минимальные значения, а содержание фенольных соединений становится максимальным. С помощью АЭС-ИСП-анализа в талломах *H. physodes* выявлено 20 элементов (Al, B, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Pb, Sn, Sr, Ti, V, W, Zn), которые обнаружены в образцах из всех изученных природных сообществ, за исключением Mo, отсутствующего в черноольшанике. Максимальные концентрации почти для половины элементов (Al, B, Fe, K, Mo, Na, Sn, Ti, V) зарегистрированы в образцах из ельника, где благодаря высокому и более стабильному уровню влажности воздуха талломы чаще и продолжительнее находятся в гидратированном состоянии. Анализ взаимной корреляции физиолого-биохимических показателей и уровней содержания металлов позволил выявить сложную систему корреляционных связей. Она свидетельствует о высокой скоординированности различных физиологических процессов. Важную роль в поддержании их согласованности при изменении экологических условий играет хлорофилл *a*, с содержанием которого сопряжено больше различных показателей и уровней концентраций элементов.

Ключевые слова: физико-химические методы, метод АЭС-ИСП, фотосинтетические пигменты, хлорофилл *a*, хлорофилл *b*, феофитинизация, общий азот, фенольные соединения, антиоксидантная активность, элементный состав, металл, макроэлемент, микроэлемент, *Hypogymnia physodes*, природные фитоценозы, корреляционный анализ.

*We studied the physiological and biochemical parameters as well as the elemental composition of *Hypogymnia physodes* samples from various phytocenoses differing in lighting conditions and air humidity. Under the conditions of severe shading in the spruce forest we observed in *H. physodes* thalli a significant increase in the content of chlorophyll *a* and nitrogen, the maximum value of the pheophytinization coefficient, and the minimum content of phenolic compounds. High insolation in birch and pine forests led to a decrease in the values of all the studied biochemical parameters, with the exception for phenolic compounds, the content of which was the highest under these conditions. AES-ICP analysis of *H. physodes* thalli revealed 20 elements (Al, B, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Pb, Sn, Sr, Ti, V, W, Zn). These elements were found in lichen samples from all the studied natural phytocenoses, with the exception of Mo, which was absent in the samples from black alder forest. The maximum concentration for almost half of the elements*

COMPLEX PHYSICO-CHEMICAL ANALYSIS OF *Hypogymnia physodes* IN DIFFERENT PHYTOCENOSES**A. F. Meysurova^{1*}, A. A. Notov¹, A. V. Pungin², L. N. Skrypnik²** (¹ Tver State University, Tver, 170100, Russia; e-mail: alexandrauraz@mail.ru; ² Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, 236041, Russia)

(Al, B, Fe, K, Mo, Na, Sn, Ti, V) were determined in the samples from the spruce forest, where, due to the high and more stable level of humidity, the thalli are oftener and longer presented in a hydrated state. Based on the analysis of the cross-correlation of the physiological and biochemical parameters and the metal concentration in the samples, a complex system of correlation relationships was established. The results indicate a high coordination of various physiological processes. A crucial role in the supporting of their consistency under the changing environmental conditions was found for chlorophyll a. The content of this pigment was associated with a more significant number of different physiological and biochemical parameters and element concentrations.

Keywords: physico-chemical methods, ICP–AES method, photosynthetic pigments, chlorophyll a, chlorophyll b, pheophytinization, total nitrogen, phenolic compounds, antioxidant activity, elemental composition, metals, macroelements, microelements, *Hypogymnia physodes*, natural phytocenoses, correlation analysis.

Введение. Лишайники очень чувствительны к изменениям условий среды, поэтому они нередко становятся модельными объектами в работах по экологической физиологии и токсикологии [1]. Чаще других видов изучают эпифитный лишайник *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. [1—5]. Однако анализируют в большинстве случаев только одну физиологическую характеристику или функциональную систему. Нередко оценивают уровень содержания фотосинтетических пигментов [6—12]. Исследования по экотоксикологии и биомониторингу осуществляются обычно независимо от физиологических. Механизмы поглощения металлов и элементный состав чаще изучают безотносительно к динамике изменения физиологических параметров [13]. При этом данные о содержании металлов собирают, как правило, в сильно трансформированных экосистемах, реже в ненарушенных сообществах фиксируют фоновые значения элементов [14]. Хотя широкий спектр современных физико-химических методов позволяет осуществлять комплексное исследование многих процессов у лишайников, сопряженный анализ физиологических характеристик и элементного состава в разных экологических условиях проводят очень редко [10, 14, 15].

Цель настоящей работы — выявление специфики физиологических характеристик *Hypogymnia physodes* в разных экологических условиях и характера ее связи с элементным составом таллома на антропогенно ненарушенных природных территориях. Для этого определены основные физиолого-биохимические показатели и уровень их сопряженности в разных типах фитоценозов; с помощью АЭС-ИСП-анализа выявлен элементный состав анализируемых образцов; проведен сопряженный анализ физиолого-биохимических показателей и уровней содержания элементов в разных экологических условиях.

Материалы и методы. Модельная территория и образцы *Hypogymnia physodes*. Сбор материала проведен в южной части Нелидовского района Тверской области (рис. 1). Модельная территория находится в 20—25 км юго-восточнее города Нелидово. Она приурочена к междуречью рек Лучеса и Береза (левые притоки Межи) и расположена на западе Обшинского физико-географического района. В этом районе распространены слабо дренированные волнистые зандровые равнины с елово-сосновыми и мелколиственными лесами, которые сформировались на дерново-подзолисто-глеевых почвах, а также болотные комплексы разных размеров [16]. Уровень антропогенного воздействия на ландшафты низкий. Ближайшие промышленные предприятия находятся в городе Нелидово. Интенсивность транспортных потоков на автотрассе Нелидово—Белый невысокая. Грунтовые дороги используются редко.

Материал по *Hypogymnia physodes* собран 19 июня 2019 г. в окрестностях деревни Бор (12 жителей) в разных фитоценозах на северо-восточном берегу озера Боровское. Озеро со всех сторон окружено массивами хвойных, мелколиственных и смешанных лесов. На северо-востоке к ним примыкает болотный комплекс Ванелов Мох. Безлесные участки есть только около деревень Бор и Новоселки. В 150—200 м от северного берега проходит малоиспользуемая грунтовая дорога местного значения Новоселки—Верхнее Заборье—Максимова Гора—Большое Реданово.

Образцы *Hypogymnia physodes* собраны в средней части берегового склона в березняке, сосняке и ельнике, а также вдоль береговой линии озера в черноольшанике (табл. 1). В трех первых местообитаниях лесные сообщества сформировались в экотопах, сходных по многим характеристикам. В качестве общего содоминанта в них встречается ландыш майский (*Convallaria majalis* L.). Однако существенно различаются освещенность и режимы влажности воздуха, в которых находятся эпифитные лишайники. Освещенность и уровень солнечной инсоляции наиболее высокие в сосняке и березняке, а самые низкие в ельнике. Высокий и более стабильный уровень влажности воздуха характерен

для черноольшаника и ельника. Прибрежный черноольшаник представляет вариант облесенных болотных сообществ. Значительная влажность обеспечивается также его приуроченностью к береговой линии озера. В ельнике высокая и стабильная влагообеспеченность воздуха поддерживается благодаря четко выраженному затенению, которое обусловлено экоморфологическими особенностями ели и спецификой структуры ее кроны. В сосняке и березняке характеристики режима влажности воздуха сопоставимы и существенно ниже, чем в черноольшанике и ельнике.

В каждом из четырех природных сообществ выделены пункты сбора (ПС) образцов (табл. 1). Благодаря мозаичности растительного покрова на северо-восточном берегу оз. Боровское модельные фитоценозы расположены очень компактно на территории, площадь которой не более 1 га. В модельных фитоценозах *Hypogymnia physodes* росла в условиях разного освещения и при различных режимах влажности воздуха. В березняке и сосняке высокая интенсивность света сочетается с более низким, менее стабильным уровнем влажности воздуха. В черноольшанике и ельнике освещенность ниже, чем в березняке и сосняке (табл. 1), а уровень влажности воздуха выше и более стабилен. В ельнике наблюдается максимально высокое затенение, которое сопряжено со стабильным режимом влажности воздуха. В каждом ПС заложены пробные площадки размером 10×10 м и сделаны их геоботанические описания. Названия ассоциаций даны с использованием доминантного подхода. В связи со значительной вариабельностью суточных и сезонных показателей абсолютной освещенности приведены интервалы их значений для полуденного времени в июне. Образцы *Hypogymnia physodes* собирали с доминирующей в сообществе древесной породы (табл. 1). В каждом из четырех ПС взято по 7—10 образцов лишайника с разных деревьев. Всего изучено около 40 проб.

Т а б л и ц а 1. Характеристика пунктов сбора (ПС) образцов *Hypogymnia physodes*

ПС	Координаты	Высота, м н.у.м.	Местообитание	Древесная порода
1	56°04'36,6" с.ш., 32°52'36,5" в.д.	191.2	березняк ландышево-брусничный в средней части берегового склона, сомкнутость крон 0.5, освещенность 30–35 тыс. лк	береза повислая (<i>Betula pendula</i> Roth.)
2	56°04'36,7" с.ш., 32°52'37" в.д.	191.4	сосняк ландышево-брусничный в средней части берегового склона, сомкнутость крон 0.4–0.5, освещенность 35–40 тыс. лк	сосна обыкновенная (<i>Pinus sylvestris</i> L.)
3	56°04'36,8" с.ш., 32°52'34,7" в.д.	189.0	черноольшаник молиниевое-тростниковый вдоль береговой линии озера, сомкнутость крон 0.6, освещенность 15–20 тыс. лк	ольха клейкая (<i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertn.)
4	56°04'36,5" с.ш., 32°52'42,9" в.д.	193.8	ельник ландышево-кисличный на границе средней и верхней частей берегового склона, сомкнутость крон 0.7, освещенность 10–15 тыс. лк	ель обыкновенная (<i>Picea abies</i> (L.) H.Karst.)

Физико-химические исследования. Основные физиолого-биохимические характеристики проанализированы в лаборатории природных антиоксидантов Института живых систем ФГАОУ ВО “Балтийский федеральный университет им. И. Канта”. Элементный состав изучен в ЦКП “Лаборатория биотехнологических измерений” ФГБОУ ВО “Тверской государственной университет”.

Содержание хлорофиллов *a* и *b* (Хла, Хл_b) определено на спектрофотометре UV-3600 (Shimadzu, Япония) при $\lambda = 665$ и 648 нм по методике Барнеса [9, 17]. Для оценки уровня деградации хлорофилла в феофитин рассчитан коэффициент феофитинизации (КФ) [17].

Процентное содержание общего азота в талломах определено с использованием спектрофотометрического метода, основанного на способности аммиака и иона аммония реагировать с реактивом Несслера. Высушенные до постоянной массы образцы лишайников минерализовались методом мокрого озоления по Гинсбургу и Щегловой [18]. Оптическая плотность раствора измерена на спектрофотометре “Юнико 1201” при 410 нм.

Общее содержание фенольных соединений (ФС) выявлено с помощью метода Фолина—Чокальтеу [19]. Оптическое поглощение измерено при 760 нм на спектрофотометре UV-3600 (Shimadzu, Япония). Суммарное содержание полифенолов выражено в мг эквивалента галловой кислоты (ГК) на грамм сухой массы (мг-экв. ГК/г).

Антиоксидантная активность (АОА) экстрактов лишайников измерена амперометрическим методом на приборе “Цвет-Яуза 01-АА” (НПО “Химавтоматика”, Россия) [20]. В качестве стандарта применен раствор кверцетина. Антиоксидантная активность выражена в мг эквивалента кверцетина на грамм сухой массы (мг-экв. кверцетина/г).

Элементный состав (макро- и микроэлементы, тяжелые металлы (ТМ)) в образцах *Hypogymnia physodes* выявлен с помощью АЭС-ИСП-спектрометра iCAP 6300 Duo (Thermo Scientific, США) по стандартной методике [14, 21]. Полученные концентрации элементов в образцах сравнивали с фоновыми значениями для Тверского региона [14], а также с ПДК металлов в почве [22].

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

Результаты и их обсуждение. Физиолого-биохимические показатели. Фотосинтетическая система. Содержание Хла в образцах *Hypogymnia physodes* всегда выше ($p \leq 0.05$), чем Хлб (рис. 1) [9, 23]. Среднее содержание Хла больше в 2.6 раза (1.15 ± 0.29 и 0.44 ± 0.06 мг/г). Варибельность содержания фотосинтетических пигментов незначительная: Хла от 0.85 до 1.60 мг/г, Хлб от 0.36 до 0.52 мг/г.

Наиболее высокое содержание Хла отмечено в образцах из ельника (1.60 ± 0.09 мг/г, $p \leq 0.05$) (рис. 1), самая низкая концентрация в березняке (0.85 ± 0.03 мг/г, $p \leq 0.05$). Для содержания Хлб зависимость обратная — более высокие показатели (выше среднего) отмечены в сосняке и березняке (0.50 ± 0.03 и 0.48 ± 0.01 мг/г). Полученные результаты свидетельствуют о том, что основным фактором, определяющим уровень содержания фотосинтетических пигментов, является световой режим, что согласуется с данными [7].

Сопоставление показателей для образцов из местообитаний с разным освещением позволяет выявить основные тенденции изменения параметров фотосинтетической системы в условиях различных световых режимов (рис. 1). Снижение уровня освещенности приводит к увеличению содержания Хла, но при этом несколько снижается содержание Хлб. В контрастных по световому режиму фитоценозах (ельник—березняк и сосняк) различия по показателям фотосинтетической системы значительны. В ельнике суммарное содержание хлорофиллов больше в 1.5 раза, а Хла в 2 раза, при этом содержание хлорофилла *b* становится меньше в 1.2 раза. Уровень различий в соотношении процентных концентраций Хла и Хлб также возрастает: от 62 и 38 % в березняке до 79 и 21% в ельнике, а преобладание содержания Хла над Хлб увеличивается от 1.8 до 3.8 раз. Повышение уровня содержания Хла в затененных местообитаниях отмечено ранее в литературе и, вероятно, связано с компенсаторной адаптацией [24]. В ельнике, в условиях стабильной влажности воздуха, таллом лишайника остается в гидратированном состоянии долгое время, что способствует более высокой и регулярной фотосинтетической активности. В [6, 8, 12] отмечено, что лишайники чувствительны к внезапному увеличению света в гидратированном состоянии. В случае дегидратации слоевища, наоборот, фотосинтетическая активность снижается.

Хлорофилл *a* — очень лабильный элемент фотосинтетической системы. Амплитуда варьирования его содержания при изменении условий освещения по сравнению с Хлб больше в 5.4 раза, а тенденция к повышению концентрации при слабом освещении выявляется четче. Адаптация фотосинтетической системы к недостаточному освещению обеспечивается также в основном благодаря Хла. В условиях яркого солнечного света высокой интенсивности в определенной степени проявляется адаптивная роль и хлорофилла *b*. В сосняке, где благодаря меньшему относительному объему и высокой прозрачности крон сосны степень освещенности достигает значительного уровня, отмечено максимальное содержание Хлб — 0.5 мг/г.

Коэффициент феофитинизации. По разным причинам (при почвенной засухе, недостаточном водоснабжении и при загрязнении воздуха) происходит разрушение хлорофилла [24, 25]. КФ отражают уровень деградации хлорофиллов и для всех изученных местообитаний достоверно различаются ($p \leq 0.05$) и варьируют от 0.94 ± 0.02 (березняк) до 1.06 ± 0.02 (ельник), среднее значение 1.0 (рис. 1). Относительная стабильность этого показателя свидетельствует об отсутствии в исследуемом районе

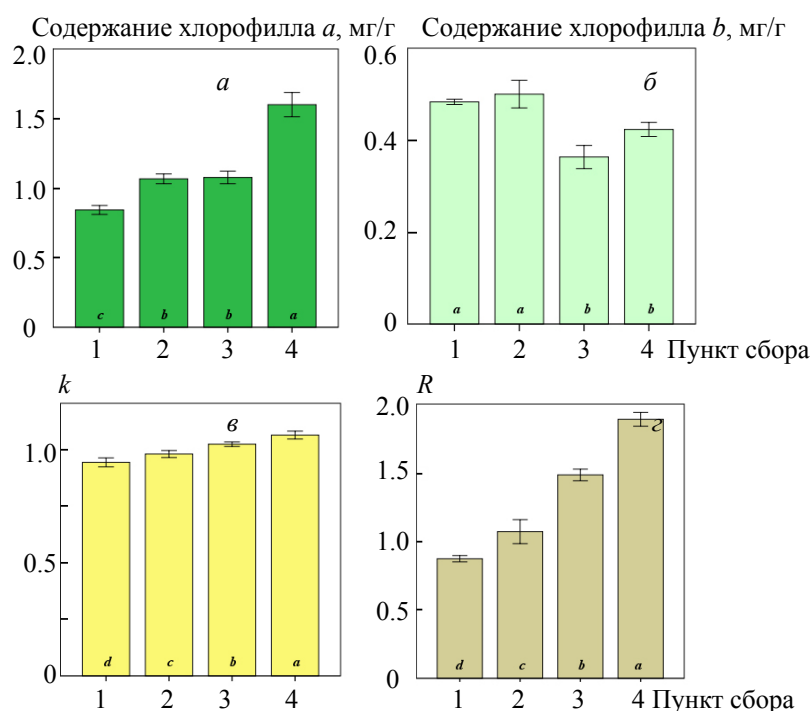


Рис. 1. Характеристика фотосинтетической системы образцов *Hypogymnia physodes* из разных фитоценозов (ПС 1—4): *a* — содержание Хла; *б* — содержание Хлб; *в* — коэффициент феофитинизации (*k*); *г* — отношение Хла к Хлб (*R*); индексами *a, b, c, d* обозначены достоверно различающиеся сравниваемые средние значения параметров на уровне значимости $p \leq 0.05$; индексы отражают число однородных подмножеств, рассчитанных критерием Тьюки

выраженного техногенного воздействия [24]. Тенденция к незначительному увеличению КФ при уменьшении интенсивности освещения может быть связана с увеличением содержания фотосинтетических пигментов, в частности Хла [24].

Содержание азота. Обнаружена тенденция к повышению уровня содержания общего азота в условиях выраженного затенения (рис. 2). В образцах из ельника установлено максимальное содержание азота 0.58 ± 0.01 % ($p \leq 0.05$). Увеличение этого показателя в данном случае косвенно связано с более интенсивным функционированием фотосинтетической системы при низком освещении. Кроме того, пыль с грунтовой дороги, к которой ближе всех по сравнению с прочими фитоценозами находится ельник, может оседать на талломах лишайника и привносить азот дополнительно. Азот является лимитирующим фактором для фиколишайников, которые не способны к азотфиксации. Дополнительное поступление азота приводит к интенсификации метаболизма в гидратированных талломах, в том числе к синтезу пигментов. Кроны ели, имеющие большую площадь поверхности, хорошо улавливают пыль, которая с осадками попадает на лишайники и увеличивает содержание азота. Благодаря этому в образцах из ельника наиболее высокое содержание азота и, соответственно, пигментов, которые сопряжены с ним прямыми связями.

Фенольные соединения и антиоксидантная активность. Выявлена тенденция к снижению содержания ФС в условиях слабого освещения. Содержание ФС в ельнике 14.20 ± 0.29 мг/г (рис. 2). Самые высокие показатели обнаружены в образцах из сосняка и березняка (18.26 ± 0.31 и 17.81 ± 0.22 мг/г). Зависимость содержания ФС в лишайниках от уровня освещенности отмечена в [26].

Средняя величина АОА в талломах лишайника 1.13 ± 0.04 мг-экв. кверцетина/г. В условиях более интенсивного освещения уровень АОА превышает средние показатели. Например, в сосняке 1.43 ± 0.03 мг-экв. кверцетина/г (рис. 1). Снижение уровня освещенности, сопряженное с высокой влагообеспеченностью воздуха и возрастанием степени ее стабильности, приводит к уменьшению АОА.

Содержание ФС в талломах и АОА их экстрактов в определенной степени зависят также от характеристик коры деревьев, на которых растут лишайники. На концентрацию ФС в талломе *Hypogymnia physodes* может влиять уровень содержания вторичных метаболитов и pH коры [27]. Для выявления характера взаимосвязей необходимы дополнительные исследования.

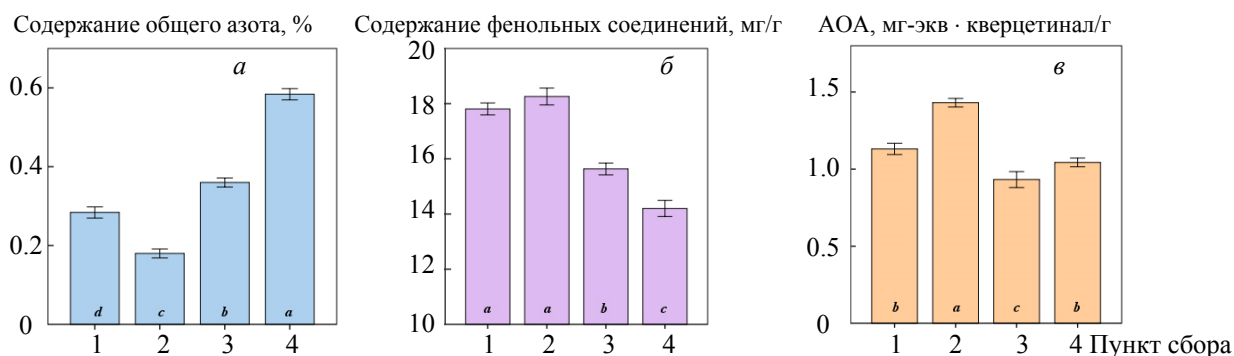


Рис. 2. Физиолого-биохимические показатели образцов *Hypogymnia physodes* из разных фитоценозов (ПС 1—4): а — содержание общего азота; б — содержание фенольных соединений; в — антиоксидантная активность АОА (индексами а, б, с, d обозначены достоверно различающиеся данные, $p \leq 0.05$)

Корреляционные связи между показателями. Корреляционный анализ не выявил значимых связей между уровнями содержания Хла и Хлб (рис. 3). Однако сильные корреляционные взаимозависимости связывают концентрации Хла с КФ ($r = -0.91$, $p \leq 0.01$), уровнями содержания ОА ($r = 0.84$, $p \leq 0.05$) и ФС ($r = -0.83$, $p \leq 0.01$). Все три зависимых от концентрации Хла показателя попарно сопряжены между собой посредством сильных прямых или обратных связей (рис. 3). Это свидетельствует о высокой согласованности энергетического и пластического обмена и существенной роли уровня содержания Хла в координации процессов синтеза ФС и азотного метаболизма у лишайников.

Благодаря сопряженности концентрации Хлб с уровнем содержания ФС ($r = 0.75$, $p \leq 0.05$) и АОА ($r = 0.86$, $p \leq 0.05$) может происходить координация параметров фотосинтетической системы в условиях реализации защитных реакций в стрессовых ситуациях. Все три показателя попарно взаимосвязаны, поэтому посредством сильной обратной зависимости между концентрациями ФС и Хла обеспечивается косвенная связь между основными фотосинтетическими пигментами — Хла и Хлб (рис. 3). Наличие значимой корреляционной зависимости между концентрацией ФС и уровнем АОА согласуется с данными [28]. Отмечено также значение ФС для осуществления защитных реакций [29, 30]. Содержание фенольных соединений достаточно четко коррелирует с различными физиолого-биохимическими показателями (рис. 3). Особенности системы корреляционных связей четко проявляются при сопоставлении физиолого-биохимических параметров образцов в контрастных экологических условиях. На изученной нами модельной территории при выраженном затенении в образцах из ельника обнаружена минимальная концентрация ФС (рис. 2). В этих образцах выявлены также максимальное содержание Хла, азота и самый высокий КФ. При этом содержание Хлб очень низкое (рис. 1 и 2).

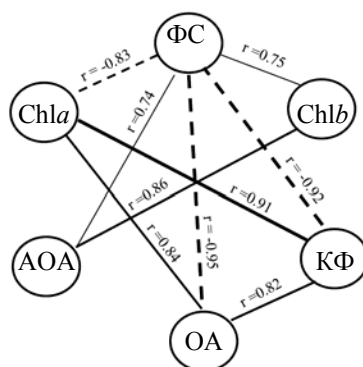


Рис. 3. Корреляционные связи между физиолого-биохимическими показателями образцов *Hypogymnia physodes*: сплошная линия — прямые связи, штриховая — обратные связи

В целом выявленная система корреляционных взаимосвязей свидетельствует о высокой скоординированности различных физиологических процессов у лишайников. Значительную роль в поддержании их согласованности при изменении экологических условий и режима функционирования играют компоненты фотосинтетической системы и прежде всего Хла. Он является наиболее лабильным элементом пигментной системы фотосинтеза и обеспечивает адаптацию к различным изменениям параметров среды, в их числе преобразование светового режима и воздействие экотоксикантов [7, 9]. Изменение концентрации ФС и АОА, происходящее синхронно с повышением содержания Хла, также сопряжено с определенными адаптивными реакциями.

Элементный состав. С помощью АЭС-ИСП-анализа в образцах *H. physodes* из разных природных сообществ обнаружено 20 элементов, среди них макро- (К, Са, Mg, Na) и микроэлементы (В, Ва, Cu, Fe, Mn, Мо, Zn). В качестве отдельной группы традиционно выделяют тяжелые металлы. Иногда в работах, посвященных изучению воздействия экотоксикантов, вместе с ними рассматривают и некоторые легкие металлы (алюминий, титан), проявляющие биологическую активность и определенную степень токсичности [31]. Нами также проанализированы эти элементы в пределах одной группы тяжелых и потенциально токсичных металлов (ТМ). В образцах *H. physodes* обнаружено девять металлов из этой группы (Al, Cd, Cr, Pb, Sn, Sr, V, Ti, W) (табл. 2). Все выявленные элементы (макро- и микро, ТМ), за исключением Мо, найдены в образцах из всех ПС. Молибден не отмечен в ПС 3.

Среди макроэлементов по уровню содержания четко выделяется кальций (средняя концентрация 18773 ± 5649 мг/кг) (табл. 2). Существенно меньше значение у натрия — 21.7 ± 7.6 мг/кг. Среди микроэлементов более высокое содержание выявлено для железа и марганца, средние концентрации которых 567.35 ± 180.85 и 242.58 ± 173.79 мг/кг. Среди микроэлементов самые низкие концентрации отмечены для меди (средняя концентрация 3.93 ± 1.06 мг/кг), бора (2.51 ± 0.65 мг/кг) и молибдена (0.12 ± 0.04 мг/кг). Среднее и валовое содержание ТМ в образцах из всех изученных фитоценозов (ПС 1—4) ниже фоновых значений для Тверской области, а также принятых значений ПДК [14, 18]. Выше, чем для других ТМ, концентрация алюминия — 521.95 ± 137.00 мг/кг. Значительны также концентрации титана, сурьмы и вольфрама (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Содержание элементов (мг/кг) в образцах *Hypogymnia physodes* из разных местообитаний

Элемент	ПС				Среднее	Размах вариации	Стандартное отклонение
	1	2	3	4			
<i>ТМ</i>							
Al	407.4±3.4	561.8±5.6	420±2.0	698.6±3.4	521.95	291.2	137.00
Cd	0.92±0.05	0.44±0.02	0.28±0.02	0.42±0.02	0.515	0.64	0.28
Cr	1.52±0.06	3.18±0.08	1.76±0.08	2.7±0.06	2.29	1.66	0.78
Pb	17.54±0.46	1.78±0.08	1.52±0.18	5.44±0.32	6.57	16.02	7.53
Sn	3.54±0.42	5.34±0.86	1.92±0.09	8.20±0.44	4.75	6.28	2.69
Sr	16.28±0.61	8.46±0.41	20.16±0.96	13.22±0.46	14.53	11.7	4.94
V	1.42±0.07	1.42±0.02	1.4±0.08	2.28±0.08	1.63	0.88	0.43
Ti	23.58±1.18	27.34±1.18	26.94±1.16	46.7±1.28	31.14	23.12	10.51
W	14.06±0.78	16.88±0.18	10.76±0.32	14.7±1.48	14.1	6.12	2.53
<i>Макроэлементы</i>							
К	942±45.2	797±39.4	1031±36	1302.2±34.2	1017.95	505.6	212.71
Са	11616±120	17176±462	24500±960	21800±1000	18773	12884	5649.02
Mg	779±32.4	443.4±20.4	1102±32.1	608±33.4	733.1	658.6	281.53
Na	15.86±0.12	17.78±0.06	20.4±0.6	32.76±0.32	21.7	16.9	7.60
<i>Микроэлементы</i>							
В	1.64±0.04	2.5±0.02	2.68±0.02	3.2±0.16	2.505	1.56	0.65
Ва	25.54±1.12	10.62±0.44	15.60±0.38	21.6±1.08	18.34	14.92	6.57
Cu	3.04±0.12	3.5±0.14	5.46±0.21	3.7±0.14	3.925	2.42	1.06
Fe	464.6±21.4	477.4±21.8	489.2±20.0	838.2±32.4	567.35	373.6	180.85
Mn	470.8±21.6	77.26±2.14	279±13.2	143.24±5.36	242.575	393.54	173.79
Мо	0.12±0.04	0.06±0.02	—	0.14±0.10	0.10667	0.08	0.04
Zn	85.52±3.22	24.32±1.04	55.22±1.06	56.28±2.14	55.335	61.2	24.99

Уровни содержания элементов в образцах из разных местообитаний различны. Максимальные концентрации почти для половины обнаруженных элементов (макроэлементы К, Na, микроэлементы В, Fe, Mo, а также ТМ — Al, Sn, Ti, V) зарегистрированы в образцах из ельника. В них не выявлено ни одного элемента с минимальной концентрацией. В ельнике благодаря высокой и стабильной влажности воздуха лишайники более регулярно и продолжительно находятся в функционально активном гидратированном состоянии. Согласно [32], наиболее активное поглощение различных элементов осуществляется гидратированным слоевищем в период его максимальной оводненности.

В образцах из березняка, где существенно иной, чем в ельнике, режим влагообеспеченности воздуха, результаты элементного анализа контрастно различаются. В березняке отмечено наибольшее количество элементов (восемь) с минимальными концентрациями. Среди них макроэлементы (Са, Na), микроэлементы (В, Cu, Fe) и ТМ (Al, Cr, Ti). В условиях низкого и нестабильного уровня содержания влаги в воздухе максимальные концентрации в образцах из сосняков обнаружены для элементов, накопление которых пассивное и внеклеточное [13], среди них, например, кадмий и свинец. Особое влияние режим влажности воздуха оказывает на накопление натрия, бора, железа и титана. Концентрация этих элементов в образцах из березняка минимальная, из ельника — максимальная.

Корреляционный анализ позволяет выявить наличие сильных прямых и обратных взаимосвязей между содержанием обнаруженных элементов. Прямых взаимосвязей больше (для 16 элементов), чем обратных (для 10 элементов) (рис. 4). Наибольшее количество сильных прямых взаимосвязей установлено для титана, ванадия, натрия и железа ($0.8 < r < 1$, $p \leq 0.05$). Сильные обратные взаимосвязи выявлены для небольшого числа элементов. Количество обратных взаимосвязей ($-1 < r < -0.8$, $p \leq 0.05$) с одинаковым элементом не более двух. Например, для вольфрама и магния выявлено по две таких зависимости.

Максимальное количество сильных связей с другими элементами отмечено для макро- и микроэлементов и ТМ, которые участвуют в различных физиологических процессах или могут иметь функциональное значение. Среди них Na, Fe, Al, Ti (по семь связей) и К, Sr (по пять связей) (рис. 5). При наличии сильных взаимосвязей между концентрациями Na и К весь этот комплекс элементов оказывается взаимно сопряженным. Практически все образующие его элементы попарно связаны. Только для Al не выявлены корреляции с уровнем содержания Na и К, но с Fe, Ti, Sr обнаружены сильные взаимосвязи. Однако с Na и К тесно связана еще группа взаимно сопряженных ТМ, среди которых Ti, Sr, V (рис. 4). Ионы натрия и калия не только поддерживают осмотическое давление и рН среды, регулируют транспорт веществ через мембраны, но и принимают участие в процессах метаболизма [33]. Железо является функциональной составляющей ферментативных систем, играет важную роль в энергетическом обмене и образовании хлорофилла [34]. Биологическая роль алюминия изучена мало. Он входит в состав межклеточных растворов и контролирует коллоидные свойства. Возможно его участие в некоторых ферментативных процессах [35]. Титан постоянно присутствует в тканях растений. Описана его возможная каталитическая функция при фотоокислении соединений азота. Ванадий необходим для зеленых водорослей, он участвует в стимулировании процессов фотосинтеза и фиксации молекулярного азота [36].

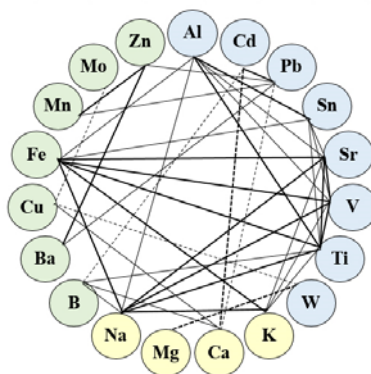


Рис. 4. Корреляционные взаимосвязи между уровнями содержания элементов в образцах *Hypogymnia physodes*: прямые — $r > 0.9$ (сплошная жирная линия), $0.8 < r < 0.9$ (сплошная тонкая); обратные — $-1 < r < -0.9$ (жирный пунктир), $-0.9 < r < -0.8$ (тонкий пунктир)

Менее целостную группу образуют ТМ, которые являются наиболее распространенными экотоксикантами. Центральное положение в ней занимает свинец, содержание которого тесно коррелирует с концентрациями Cd и некоторых микроэлементов (Ba, Mn, Zn) (рис. 3). Среди элементов, сопряженных с Pb и Cd, следует отметить В и Са, для которых выявлены сильные обратные связи с этими ТМ. Они свидетельствуют о возможной роли В и Са в защитных реакциях, направленных на уменьшение уровня воздействия ТМ, загрязняющих компоненты природной среды. При этом кальций имеет большое значение в водном обмене [37]. Имеются данные о его участии в процессе узнавания компонентов формирующейся у лишайников целостной симбиотической ассоциации [38]. Бор является важным микроэлементом, необходимым для поддержания целостности мембран клеток и клеточных органелл [39].

Физиолого-биохимические показатели и уровни содержания элементов. Анализ взаимной корреляции физиолого-биохимических показателей и уровней содержания элементов позволил охарактеризовать систему корреляционных связей в целом и выявить наличие корреляционных плеед. Не обнаружено ни одной сильной взаимосвязи этих показателей с концентрациями ТМ, которые являются наиболее распространенными экотоксикантами. Отсутствуют, например, значимые корреляции физиологических параметров с уровнем содержания свинца и кадмия, а также с элементами, которые связаны с этими ТМ тесными прямыми связями (рис. 4). Это обусловлено низким уровнем антропогенного воздействия на ландшафты модельной территории и незначительным средним и валовым содержанием данных элементов, которые оказались ниже фоновых показателей для Тверской области и принятых ПДК. Большинство макро- и микроэлементов, а также ТМ, содержание которых сопряжено с физиолого-биохимическими показателями (рис. 5), в той или иной степени являются характерными компонентами талломов лишайников, могут участвовать в физиологических процессах или иметь какое-нибудь функциональное значение.

Максимальное количество значимых прямых связей с концентрациями элементов (9) установлено для Хла (рис. 5). Для содержания азота и КФ выявлено по шесть прямых связей с металлами. Концентрация ФС связана обратными значимыми связями с содержанием четырех разных металлов. При этом концентрация хлорофилла *a* коррелирует со всеми отмеченными выше показателями (содержание общего азота и ФС, КФ) (рис. 3, 5). Все это указывает на особую роль Хла в системе корреляционных связей и позволяет рассматривать его в качестве ведущего компонента плееды. Эта особая роль подтверждается не только числом, но и значительной силой взаимосвязей концентрации Хла с содержанием каждого из девяти сопряженных с ним элементов (Al, B, Fe, K, Na, Sn, Sr, Ti, V) ($0.80 < r < 1$, $p \leq 0.05$), а также тесными связями с другими компонентами корреляционной плееды. Имеются сильные прямые связи между концентрацией Хла, содержанием общего азота и КФ (рис. 3). При этом семь из девяти связанных с Хла элементов тесно коррелируют с сопряженными с ним физиолого-биохимическими показателями — с содержанием общего азота (Fe, K, Na, Sr, Ti, V) и с КФ (B, Ca, Fe, K, Na, Ti). Взаимная сопряженность элементов и показателей обнаружена и в отношении содержания ФС, которое связано с концентрацией Хла обратными связями (рис. 3). Все четыре элемента, для которых выявлены значимые обратные связи с ФС (Fe, K, Na, Ti), сопряжены с Хла посредством сильных прямых связей (рис. 5). В составе каждой группы элементов, зависимых от рассмотренных физиолого-биохимических показателей, представлены макро- и микроэлементы, ТМ.

Для Хлб значимых корреляционных связей с концентрацией элементов установлено меньше, чем для Хла (рис. 5). Содержание Хлб связано сильными обратными корреляционными взаимосвязями с кальцием и медью. Выявлены также значимые корреляции с вольфрамом. Подобные взаимосвязи отмечены в [40]. Установлено [40], что повышение содержания меди в талломах лишайников приводит к изменению концентраций фотосинтетических пигментов — уменьшению для Хла и увеличению для Хлб. Сопряженная с Хлб антиоксидантная активность связана значимой корреляционной зависимостью только с содержанием Mg и W (рис. 5). Однако для функционирования фотосинтетической системы большое значение имеют косвенные корреляционные связи с магнием, который входит в состав молекул хлорофилла [41]. В целом корреляционная плееда взаимосвязей с Хлб слабее и характеризуется невысокой целостностью. Координирующая роль Хлб по сравнению с Хла выражена существенно в меньшей степени. Дальнейшего изучения требует сопряженность с ними некоторых ТМ (Al, Sn, Sr, Ti, V — с Хла, W — с Хлб).

Благодаря возможному функциональному значению элементов, сопряженных с физиолого-биохимическими показателями, и наличию косвенных взаимозависимостей общая система корреляционных связей сложная и многокомпонентная. Она обеспечивает скоординированность процессов

метаболизма и адапционных реакций. Значительную роль в обеспечении функциональной согласованности при изменении экологических условий и режима функционирования играют компоненты фотосинтетической системы и, прежде всего, Хл a . Сопряженные с содержанием хлорофиллов уровни концентрации ФС и АОА способствуют реализации компенсаторных и защитных реакций. Высокий уровень целостности таких реакций подтверждается многочисленными корреляционными связями физиолого-биохимических показателей с комплексами разных элементов. Эти связи свидетельствуют о возможном функциональном значении некоторых элементов и определенной их потенциальной роли в процессах адаптации к изменившимся условиям среды.

Дальнейшее изучение системы корреляционных связей у лишайников в разных экологических условиях важно для более глубокого понимания механизмов адаптации. Актуальны подобные исследования и на антропогенно трансформированных территориях. Они позволят выявить направленность и динамику компенсаторных и защитных реакций в ситуации стресса, возникающего под воздействием промышленного загрязнения окружающей среды. Это будет способствовать формированию методической базы для более детальных мониторинговых наблюдений, ориентированных на определение способов реагирования живых объектов и механизмах их адаптации.

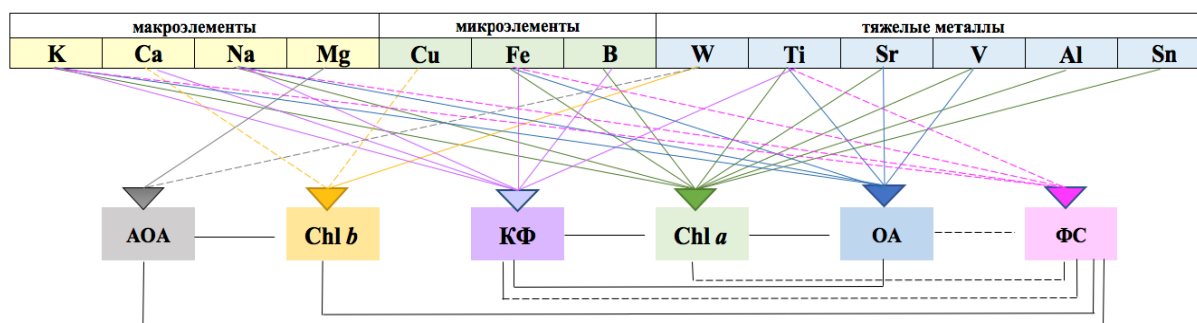


Рис. 5. Значимые корреляционные связи между физиолого-биохимическими показателями образцов *Hypogymnia physodes* и уровнями содержания элементов: прямые $0.80 < r < 1$ (сплошные линии), обратные $-1 < r < -0.80$ (штриховые)

Заключение. С помощью разных физико-химических методов выявлены различные физиолого-биохимические показатели и элементный состав образцов *Hypogymnia physodes* из различных фитоценозов антропогенно ненарушенной территории, в которых лишайник находился в условиях различных режимов освещения и влажности воздуха. Проанализированные показатели (содержание хлорофиллов a и b , общего азота, фенольных соединений, коэффициент феофитинизации, антиоксидантная активность) отражают особенности функционирования фотосинтетической системы и различные аспекты метаболизма лишайников. При определении элементного состава выявлены содержащиеся в талломах макро- и микроэлементы, а также токсичные металлы.

В условиях выраженного затенения в ельнике в талломах *H. physodes* обнаружено существенное увеличение содержания хлорофилла a и азота, максимальный коэффициент феофитинизации и минимальная концентрация фенольных соединений. При ярком освещении в березняке и сосняке большинство этих показателей приобретают минимальные значения, а содержание фенольных соединений становится максимальным. Все три коррелирующих с концентрацией хлорофилла a показателя — содержание общего азота ($r = 0.84$) и фенольных соединений ($r = -0.83$), коэффициент феофитинизации ($r = -0.91$) — попарно связаны между собой посредством сильных прямых или обратных связей. Это свидетельствует о высокой сопряженности энергетического и пластического обмена и существенной роли уровня содержания хлорофилла a в координации процессов синтеза фенольных соединений и азотного метаболизма у лишайников. Хлорофилл a — наиболее лабильный элемент фотосинтетической системы, который обеспечивает адаптацию к изменениям светового режима и других параметров среды.

С помощью АЭС-ИСП-анализа в талломах *H. physodes* отмечено 20 элементов (Al, B, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Pb, Sn, Sr, Ti, V, W, Zn), которые обнаружены в образцах из всех изученных природных фитоценозов, за исключением Mo, отсутствующего в черноольшанике. Максимальные концентрации почти для половины элементов (Al, B, Fe, K, Mo, Na, Sn, Ti, V) зарегистриро-

ваны в образцах из ельника, где благодаря высокому и более стабильному уровню влажности воздуха талломы чаще и продолжительнее находятся в функционально активном гидратированном состоянии. Максимальное количество сильных взаимосвязей между элементами отмечено для макро- и микроэлементов и токсичных металлов, которые участвуют в различных физиологических процессах или могут иметь функциональное значение. Среди них K, Na, а также Al, Fe, Ti, Sr. Практически все элементы этого комплекса взаимно сопряжены и попарно связаны.

Благодаря наличию у 13 элементов значимых корреляционных связей с различными взаимно сопряженными между собою физиолого-биохимическими показателями общая система корреляций сложная и многокомпонентная. Она обеспечивает скоординированность процессов метаболизма и адаптационных реакций. Практически все 13 элементов прямо или косвенно связаны с уровнем содержания хлорофилла *a*, что также свидетельствует о существенной координирующей роли этого параметра фотосинтетической системы. Отсутствие значимых корреляций физиологических параметров с концентрациями свинца и кадмия обусловлено низким уровнем антропогенного воздействия на ландшафты модельной территории.

Актуально продолжение исследований, ориентированных на сопряженный анализ физиологических характеристик и элементного состава лишайников в разных экологических условиях с использованием различных современных физико-химических методов, что будет способствовать более детальному изучению механизмов адаптации и компенсаторных реакций, выявлению функциональной роли различных элементов, расширит представления об особенностях поглощения и накопления в талломах лишайников различных металлов. В перспективе это позволит проводить мониторинг с учетом механизмов реагирования биосистем на изменение условий природной среды.

Авторы благодарят рецензента за конструктивное обсуждение результатов и ценные замечания.

- [1] **G. Sujetovienė**. Recent Advances in Lichenology: Modern Methods and Approaches in Biomonitoring and Bioprospectio, **1**, Berlin, Springer (2015) 87—118
- [2] **G. Brunialti, L. Frati**. Sci. Total Environ., **387**, N 1-3 (2007) 289—300
- [3] **A. Parzych, A. Zduńczyk, A. Astel**. J. Elementol., **21**, N 3 (2016) 781—795
- [4] **Нгуен Ле Тхи Бич, С. Е. Журавлева, П. В. Бондаренко, Э. М. Трухан**. Аналитика, **4**, № 35 (2017) 58—62
- [5] **G. Sujetovienė, P. Smilgaitis, R. Dagiliūtė, J. Žaltauskaitė**. Waste Manag., **85** (2019) 60—65
- [6] **M. Jense, S. Chakir, G.B. Feige**. Photosynthetica, **37**, N 3 (1999) 393—404
- [7] **L. Paoli, T. Pisani, S. Munzi, C. Gaggi, S. Loppi**. Biologia, **65**, N 5 (2010) 776—783
- [8] **S. A. Pirintzos, L. Paoli, S. Loppi, K. Kotzabasis**. Climat. Change, **107**, N 3 (2011) 305—328
- [9] **А. Ф. Мейсунова, 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]
- [10] **A. Vannini, L. Paoli, V. Nicolardi, L. A. Di Lella, S. Loppi**. Acta Botan. Croat., **76**, N 2 (2017) 171—176
- [11] **F. Petruzzellis, T. Savi, S. Bertuzzi, A. Montagner, M. Tretiach, A. Nardini**. Planta, **247**, N 3 (2018) 705—714
- [12] **E. Bianchi, L. Paoli, I. Colzi, A. Coppi, C. Gonnelli, L. Lazzaro, S. Loppi, A. Papini, A. Vannini, R. Benesperi**. Mycol. Progr., **18**, N 3 (2019) 463—470
- [13] **L. Paoli, A. Vannini, F. Monaci, S. Loppi**. Chemosphere, **199** (2018) 655—660
- [14] **А. Ф. Мейсунова, 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]
- [15] **R. K. Port, M. I. Käffer, J. L. Schmitt**. Environ. Sci. Pollut. Res., **25**, N 33 (2018) 33667—33677
- [16] **А. А. Дорофеев, Е. Р. Хохлова**. Ландшафты Тверской области, Тверь, ТвГУ (2016)
- [17] **J. D. Barnes, L. Balaguer, E. Manrique, S. Elvira, A. W. Davison**. Environ. Experim. Botany, **32**, N 2 (1992) 85—100
- [18] **О. Л. Воскресенская, Е. А. Алябышева, М. Г. Половникова**. Большой практикум по биоэкологии, ч. 1, Йошкар-Ола, Марийский гос. ун-т (2006)
- [19] **A. Khadhri, M. Mendili, M. E. M. Araújo, M. R. Seaward**. Symbiosis, **79**, N 1 (2019) 25—31
- [20] **A. Y. Yashin**. Russ. J. Gen. Chem., **78**, N 12 (2008) 2566—2571

- [21] 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)
- [22] ГН 2.1.7.2041-06 "Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в почве" (2006)
- [23] **A. Demirbas.** *Energy Sourc.*, **26**, N 5 (2004) 499—506
- [24] **В. И. Андросова, Е. Ф. Марковская, Е. В. Семенова.** *Успехи соврем. естествознания*, **2** (2015) 120—125
- [25] **Л. Х. Слонов, Т. Л. Слонов, З. М. Ханов.** Эколого-физиологические особенности лишайников горной системы Центральной части Северного Кавказа, Нальчик, Эльбрус (2009)
- [26] **K. A. Solhaug, M. Lind, L. Nybakken, Y. Gauslaa.** *Flora: Morphology, Distribution, Functional ecology of plants*, **204**, N 1 (2009) 40—48
- [27] **E. Latkowska, J. Bialczyk, M. Wegrzyn, U. Erychleb.** *Allelopathy J.*, **47**(2) (2019) 221—232
- [28] **А. И. Щербакова.** *Вестн. Поволжского госуд. технол. ун-та. Сер. Лес. Экология. Природопользование*, **4**, N 40 (2018) 75—84
- [29] **Н. В. Загоскина, Т. Н. Николаева, П. В. Лапшин, А. Г. Заварзина, А. А. Заварзин.** *Химия растит. сырья*, **4** (2011) 245—249
- [30] **G. Shrestha, L. L. St Clair.** *Polyphenols in Plants*, Academic Press (2014) 53—62
- [31] **Н. А. Голубкина, В. А. Лапченко, Е. В. Лапченко, Т. С. Науменко, Е. С. Крайнюк, Н. А. Багрикова.** *Бюллетень ГНБС*, **130** (2019) 26—35
- [32] **M. Barták, J. Hájek, J. Gloser.** *Photosynthetica*, **38**, N 4 (2001) 531—537
- [33] **T. H. Nash III.** *Lichen Biology*, Cambridge, Cambridge University Press (2008) 234—251
- [34] **M. Hauck, A. Paul, S. Gross, M. Raubuch.** *Environ. Experim. Botany*, **49**, N 2 (2003) 181—191
- [35] **M. Vačkor, S. Loppi.** *Biologia Plantarum*, **53**, N 2 (2009) 214—222
- [36] **В. С. Жданов.** *Аквариумные растения*, Москва, Лесная промышленность (1987)
- [37] **H. G. M. Edwards, N. C. Russell, M. R. D. Seaward.** *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **53**, N 1 (1997) 99—105
- [38] **M. Sacristan, M. Vivas, A. M. Millanes, B. Fontaniella, C. Vicente, M. E. Legaz.** *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*, Badajoz, Formatex Research Center (200) 213—219
- [39] **R. J. Reid, J. E. Hayes, A. Post, J. C. R. Stangoulis, R. D. Graham.** *Plant, Cell Environ.*, **27**, N 11 (2004) 1405—1414
- [40] **M. K. Chettri, C.M. Cook, E. Vardaka, T. Sawidis, T. Lanaras.** *Environ. Experim. Botany*, **39**, N 1 (1998) 1—10
- [41] **J. Garty, Y. Karary, J. Harel.** *Archiv. Environ. Contamin. Toxicol.*, **24**, N 4 (1993) 455—460