

УДК 574.2+504.054+553.492.1+582.29

НАКОПЛЕНИЕ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ МЕТАЛЛОВ В СЛОЕВИЩАХ ЛИШАЙНИКОВ В УСЛОВИЯХ ПЫЛЕВОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПРИ ОТКРЫТОЙ РАЗРАБОТКЕ МЕСТОРОЖДЕНИЯ БОКСИТОВ

© 2024 г. И. Г. Захожий^а, *, М. А. Шелякин^а

^аИнститут биологии Коми научного центра УрО РАН, Россия, 167982, Сыктывкар,
ул. Коммунистическая, 28

*e-mail: zakhzhij@ib.komisc.ru

Поступила в редакцию 11.07.2023 г.

После доработки 18.08.2023 г.

Принята к публикации 15.09.2023 г.

Исследовали накопление и локализацию металлов в листоватых лишайниках *Lobaria pulmonaria*, *Hypogymnia physodes* и *Peltigera aphthosa*, обитающих в импактной зоне Средне-Тиманского бокситового рудника. Выявлено значительное накопление талломами Al (16–19 г/кг), Fe (16–20 г/кг) и Ti (0.3–0.7 г/кг). От 29 до 82% от общего содержания этих металлов локализовано в слабо закрепленных на поверхности слоевищ пылевых частицах. Суммарная доля интра- и экстрацеллюлярно связанных Al, Fe и Ti не превышала 11%. В остаточной фракции обнаруживалось 15–56% данных металлов. В талломах, отобранных на импактной территории, выявлено увеличение содержания Cu, Pb, Co и Ni. Показано, что локализация металлов в талломах зависит как от рассматриваемого элемента, так и от морфолого-анатомических характеристик слоевищ: у *L. pulmonaria* мелкодисперсные минеральные частицы были локализованы на поверхности талломов, в талломах *P. aphthosa*, не имеющих нижнего корового слоя, минеральные включения обнаружены по всей толще слоевищ.

Ключевые слова: лишенизированные грибы, Республика Коми, Средний Тиман, бокситы, поллютанты, металлы, аккумуляция, последовательная экстракция, электронная микроскопия

DOI: 10.31857/S0367059724010045 **EDN:** XBSGIO

Добыча и переработка полезных ископаемых практически неизбежно приводят к эмиссии поллютантов. Загрязнение окружающей среды пылевыми выбросами оказывает значительное негативное влияние на все структурные элементы биосферы. Мониторинг поступления пылевых выбросов и оценка влияния содержащихся в них минеральных и органических веществ на почвенно-растительный покров являются важной задачей, особенно для северных экосистем с низкой способностью к самоочищению и самовосстановлению.

Лишайники широко используются в системе биоиндикации окружающей среды, в том числе при мониторинге загрязнения атмосферы металлами [1]. Их талломы не имеют защитных покровов, могут в значительных количествах накапливать химические соединения из атмосферы и осадков в течение жизненного цикла [2]. К основным механизмам связывания металлов в талломах относят физическое связывание частиц на поверхности талломов и в межклеточном

пространстве слоевищ, внеклеточное и внутриклеточное накопление [3]. Большое количество работ посвящено изучению накопления тяжелых металлов в лишайниках в зоне деятельности металлургических предприятий [4–6], их локализации [3, 7], механизмам поглощения [8, 9] и детоксикации [10]. В ряде исследований [11, 12] показано, что длительное загрязнение территорий пылевыми выбросами при разработке рудных месторождений приводило к изменению численности и структуры сообществ лишайников и морфологии их талломов. Пылевые выбросы являются сложной гетерогенной смесью взвешенных в воздухе, часто нерастворимых, твердых частиц, различающихся по размеру, происхождению и химическому составу [13]. Физико-химические свойства соединений, содержащихся в атмосферных выбросах, опосредуют интенсивность поглощения и локализации металлов в лишайниках, в связи с чем необходима количественная оценка этих показателей при поступлении пылевых частиц на поверхность талломов.

Цель настоящей работы — изучение закономерностей и специфики накопления и локализации металлов в листоватых лишайниках, обитающих в импактной зоне бокситового рудника. Результаты исследования позволят охарактеризовать влияние поступления в окружающую среду пылевых выбросов бокситового рудника на изменения элементного состава лишайников, оценить вклад различных механизмов связывания металлов лишайнизированными грибами в условиях полиметаллического загрязнения при атмосферном осаждении пылевых выбросов, изучить влияние морфологических особенностей талломов на поглощение ими мелкодисперсных минеральных частиц.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объекты исследования и характеристика местобитаний лишайников. Исследования проведены на территории Средне-Тиманского бокситового рудника (СТБР), расположенного на стыке Усть-Цилемского, Княжпогостского и Удорского районов Республики Коми. Добыча бокситов на руднике проводится открытым способом более 20 лет. Прогнозное количество ежегодно поступающих в атмосферу от объектов Вежаю-Ворыквинского месторождения выбросов составляет более 5500 т: оксиды азота — 636 т, оксид углерода — 1112 т, сернистый ангидрид — 786 т, пыль неорганическая — 1059 т, сажа — 345 т [12]. Основными источниками поступления в окружающую среду загрязнителей от производственных объектов СТБР являются буровзрывные работы, выемка рудного тела, перемещение бокситовой руды и вмещающих ее горных пород, пыление шлехтовального склада и отвалов вскрышных пород, перемещение транспорта по межпромысловым и технологическим дорогам. Мониторинговые исследования на территории деятельности СТБР свидетельствуют о постепенном росте площадей, испытывающих устойчивое загрязнение. Анализ снежного покрова выявил, что в пылевых выпадениях вблизи основных технологических объектов рудника отмечается четырехкратное и более увеличение концентраций Al, Fe, Si, Mn, Ni, Co, Ti, Cu, Pb, Zn, Cd по сравнению с фоновыми значениями. В зоне влияния объектов бокситового рудника обнаружены превышающие ПДК уровни взвешенных частиц Al, Fe, Co, Ti, Cu и ряда других металлов в снеговой воде и водах временных водотоков. В почвах, приуроченных к бокситовым карьерам, наблюдается интенсивное накопление Al, Ti и Pb [14]. С вводом в эксплуатацию Верхне-Шугорского месторождения

бокситов, в рамках освоения карьеров второй очереди СТБР, можно ожидать увеличения поступления атмосферных выбросов.

В качестве модельных объектов использовали эпифитные листоватые лишайники *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm., *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. и эпигейный листоватый лишайник *Peltigera aphthosa* (L.) Willd. Отбор проб лишайников проведен в елово-березовом с примесью осины лесу вблизи объектов производственной и транспортной инфраструктуры рудника. В качестве условно-фоновой территории (далее фоновая территория) выбран участок, удаленный от рудника на расстояние около 4 км и имеющий сходный с импактной территорией почвенный и растительный покров. Талломы *L. pulmonaria* отбирали со стволов осины, слоевища *H. physodes* — со стволов и ветвей ели. Отбор проб лишайников (не менее чем по 3–5 талломов на 15–30 деревьях) проводили со всего ствола (ветвей) в промежутке высот 1–2,5 м от земли. Сбор слоевищ *P. aphthosa* осуществляли с растительных остатков или мха на поверхности почвы. Для составления средней пробы отбирали 5–8 крупных лопастей с 20–25 талломов, расположенных на расстоянии более 5 м друг от друга. После отделения от субстрата талломы высушивали до воздушно-сухого состояния и составляли среднюю пробу, используя не менее 30 индивидуальных образцов слоевищ.

Химический анализ лишайников. Анализ содержания металлов в талломах выполняли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (ФР.1.31.2006.02149) на спектрометре «Spectro Ciros CCD» (SPECTRO Analytical Instruments, Германия). Минерализацию образцов талломов осуществляли под воздействием микроволнового поля в присутствии HNO_3 (конц.) и H_2O_2 . Анализы выполнены в Эко-аналитической лаборатории Института биологии Коми НЦ УрО РАН (аттестат аккредитации РОСС RU.0001.511257 от 25.09.2015). Распределение металлов в талломах лишайников между различными фракциями оценивали с помощью процедуры последовательной экстракции [15], модернизированной нами с учетом специфики поступления и физико-химических свойств приоритетного поллютанта [16].

Для проведения процедуры последовательной экстракции использовали средние пробы талломов. Общее содержание металлов в талломах оценивали в навеске из средней пробы слоевищ до удаления пылевых отложений с их поверхности.

Для удаления слабо закрепленных на поверхности пылевых частиц оставшиеся талломы трижды промывали деионизированной водой и отбирали навеску для элементного анализа. Оставшуюся часть среднего образца трижды экстрагировали 20 мМ раствором ЭДТА- Na_2 для извлечения неспецифически связанных с клеточными стенками ионов металлов (экстрацеллюлярная фракция) и отбирали навеску для анализа. После извлечения из слоевищ экстрацеллюлярной фракции оставшиеся талломы выдерживали 12 ч. при температуре 80 °С для разрушения клеточных мембран, вновь экстрагировали раствором ЭДТА- Na_2 для выделения интрацеллюлярной фракции металлов и проводили элементный анализ слоевищ.

Пул остаточной фракции металлов оценивали по их содержанию в талломах после удаления пылевой, экстра- и интрацеллюлярной фракций, затем осуществляли расчет содержания металлов в отдельных фракциях:

$$P(\text{Me})_{\text{пыл.}} = \rho(\text{Me})_{\text{общ.}} - \rho(\text{Me})_{\text{водн.}}, \quad (1)$$

$$P(\text{Me})_{\text{экт.}} = \rho(\text{Me})_{\text{водн.}} - \rho(\text{Me})_{\text{ЭДТА}}, \quad (2)$$

$$P(\text{Me})_{\text{инт.}} = \rho(\text{Me})_{\text{ЭДТА}} - \rho(\text{Me})_{\text{тем.}}, \quad (3)$$

$$P(\text{Me})_{\text{ост.}} = \rho(\text{Me})_{\text{общ.}} - P(\text{Me})_{\text{пыл.}} - P(\text{Me})_{\text{экт.}} - P(\text{Me})_{\text{инт.}}, \quad (4)$$

где $P(\text{Me})_{\text{пыл.}}$ — содержание металла в пылевой, $P(\text{Me})_{\text{экт.}}$ — в экстрацеллюлярной, $P(\text{Me})_{\text{инт.}}$ — в интрацеллюлярной, $P(\text{Me})_{\text{ост.}}$ — в остаточной фракциях; $\rho(\text{Me})_{\text{общ.}}$ — общее содержание металла в талломе; $\rho(\text{Me})_{\text{водн.}}$ — содержание металла в талломе после промывки водой; $\rho(\text{Me})_{\text{ЭДТА}}$ — содержание металла в талломе после экстракции раствором ЭДТА- Na_2 ; $\rho(\text{Me})_{\text{тем.}}$ — содержание металла в талломе после экспозиции при 80 °С и последующей экстракции раствором ЭДТА- Na_2 . Если результаты анализов не позволяли идентифицировать распределение того или иного металла между интра- и экстрацеллюлярной фракциями (табл. 1), рассчитывали суммарное содержание элемента в составе двух этих фракций (здесь они трактуются как общее содержание металлов, локализованных внутриклеточно и связанных на клеточных стенках симбионтов).

Электронная микроскопия и энергодисперсионный анализ. Для анализа локализации металлов в лишайниках методом сканирующей электронной микроскопии слоевища отмывали деионизированной водой, замораживали в жидком азоте и подвергали лиофилизации. Поперечные срезы талломов иммобилизовали полиэфирной смолой. Полученные препараты подвергали вакуумной полимеризации. Полированную поверхность препаратов покрывали токопроводящим углеродным покрытием толщиной около 25 нм. Электронная микроскопия образцов была проведена на сканирующем электронном микроскопе «TESCAN Vega 3 LMN» (Tescan, s.r.o., Чехия). Анализ химического состава минеральных частиц и построение карт распределения химических элементов в препаратах лишайников осуществляли с использованием энергодисперсионного спектрометра «X-MAX» (Oxford Instruments plc, Великобритания). Сканирующую электронную микроскопию и рентгеновский микроанализ образцов лишайников проводили в ЦКП «Геонаука» Института геологии Коми НЦ УрО РАН.

Статистическая обработка данных. Для оценки изменений распределения относительной доли металлов между различными фракциями в талломах лишайников на фоновых и загрязненных территориях использовали анализ главных компонент с помощью программного обеспечения Statistica 10 («StatSoft Inc.», США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание металлов в талломах лишайников.

Согласно полученным данным (см. табл. 1), талломы *L. pulmonaria* и *P. aphthosa* на условно-фоновой территории практически не отличались по содержанию большинства рассматриваемых элементов. Общее содержание металлов в талломах *P. aphthosa* находилось вблизи оцененных нами ранее значений для слоевищ этого вида, отобранных на удалении от производственных объектов рудника [16]. Концентрации Fe, Al, Mn, Ti, Zn и Pb в талломах *H. physodes* на фоновой территории в 2 раза и более превосходили данные показатели, характерные для *L. pulmonaria* и *P. aphthosa*. Обнаруженные нами для *H. physodes* значения оказались несколько выше фоновых показателей, приводимых для этого вида в ходе проведения многолетних мониторинговых исследований на территории воздействия СТБР [12].

Абсолютные величины общего содержания Al и Fe в слоевищах на импактной территории в 18–51 раз, Ti — в 6–40 раз превосходили эти показатели для фоновой территории (см. табл. 1). Также отмечена аккумуляция талломами Ni, Co, Cu и Pb

Таблица 1. Содержание металлов в талломах лишайников, отобранных на фоновом участке (Фон) и импактной территории (Загрязнение) Средне-Тиманского бокситового рудника, мг/кг

Фракция	Вариант	Al	Fe	Mn	Ti	Cu	Zn	Pb	Co	Ni
<i>Hypogymnia physodes</i>										
Интрацеллюлярная	Фон	70 (9)	160 (18)	13 (2)	11 (21)	1.6 (26)	39 (33)	<0.1	0.17 (27)	0.4 (18)
	Загрязнение	500 (3)	400 (3)	8 (2)	9 (3)	1.4 (9)	34 (43)	0.9 (8)	0.13 (3)	0.5 (4)
Экстрацеллюлярная	Фон	110 (14)	170 (19)	611 (89)	12 (23)	2.0 (33)	62 (52)	3.0 (50)	0.28 (44)	0.9 (45)
	Загрязнение	1000 (6)	1300 (8)	386 (71)	5 (1)	4.2 (26)	32 (40)	1.8 (15)	0.86 (22)	2.5 (21)
Остаточная	Фон	390 (51)	420 (47)	46 (7)	13 (25)	2.5 (41)	19 (16)	2.4 (40)	0.18 (29)	0.7 (37)
	Загрязнение	4100 (26)	3600 (23)	66 (12)	59 (17)	2.8 (18)	10 (12)	4.4 (37)	0.61 (15)	2.3 (19)
Пылевая	Фон	190 (25)	140 (16)	20 (3)	17 (32)	< 0.1	< 0.1	0.6 (10)	< 0.01	< 0.1
	Загрязнение	10400 (65)	10700 (67)	80 (15)	267 (79)	7.6 (48)	4.0 (5)	4.9 (41)	2.40 (60)	6.7 (56)
Общее содержание	Фон	760	890	690	53	6.1	120	6.0	0.63	2.0
	Загрязнение	16000	16000	540	340	16	80	12.0	4.00	12.0
<i>Lobaria pulmonaria</i>										
Интрацеллюлярная	Фон	30 (7)	40 (10)	9 (2)	6 (32)	1.0 (21)	29 (47)	0.1 (5)	0.06 (14)	0.1 (9)
	Загрязнение	800*	500*	7 (2)	35 (5)	2.8 (9)	45 (69)	0.2 (2)	0.20 (4)	0.1 (1)
Экстрацеллюлярная	Фон	70 (16)	80 (21)	198 (52)	4 (22)	1.2 (26)	9 (15)	0.4 (33)	0.08 (19)	0.3 (21)
	Загрязнение	800*	500*	96 (30)	40 (6)	3.6 (12)	6 (9)	0.9 (10)	1.00 (18)	2.0 (13)
Остаточная	Фон	190 (43)	170 (44)	4 (1)	6 (35)	2.5 (53)	13 (21)	0.5 (38)	0.05 (12)	0.6 (53)
	Загрязнение	2900 (15)	3300 (17)	27 (8)	55 (8)	7.0 (23)	10 (15)	1.7 (18)	0.80 (14)	3.3 (21)
Пылевая	Фон	150 (34)	100 (26)	170 (45)	2 (11)	< 0.1	11 (18)	0.3 (25)	0.24 (56)	0.2 (17)
	Загрязнение	15300 (81)	16200 (81)	190 (59)	590 (82)	17.6 (57)	4 (6)	6.4 (70)	3.60 (64)	10.6 (66)
Общее содержание	Фон	440	390	380	18	4.7	62	1.2	0.43	1.2
	Загрязнение	19000	20000	320	720	31	65	9.2	5.60	16.0
<i>Peltigera aphthosa</i>										
Интрацеллюлярная	Фон	20 (5)	20 (4)	30 (13)	1 (3)	2.6 (50)	23.5 (43)	0.2 (11)	0.04 (12)	0.5 (30)
	Загрязнение	1400*	1500*	26 (5)	30 (6)	8.0 (36)	18.1 (24)	1.0 (11)	0.90 (23)	2.2 (16)
Экстрацеллюлярная	Фон	20 (5)	50 (11)	122 (53)	1 (3)	0.1 (2)	25.0 (45)	1.1 (61)	0.15 (44)	0.2 (13)
	Загрязнение	1400*	1500*	210 (43)	50 (10)	4.0 (18)	25.0 (33)	1.1 (12)	0.60 (15)	< 0.1
Остаточная	Фон	320 (78)	350 (74)	8 (3)	24 (77)	1.7 (33)	2.5 (5)	0.3 (17)	0.15 (44)	0.8 (51)
	Загрязнение	8500 (53)	8500 (53)	84 (17)	290 (56)	8.0 (36)	9.9 (13)	5.0 (54)	1.20 (30)	6.8 (49)
Пылевая	Фон	50 (12)	50 (11)	70 (30)	5 (16)	0.8 (15)	4.0 (7)	0.2 (11)	< 0.01	0.1 (6)
	Загрязнение	6100 (38)	6000 (38)	170 (35)	150 (29)	2.0 (9)	22.0 (29)	2.1 (23)	1.30 (33)	5.0 (36)
Общее содержание	Фон	410	470	230	31	5.2	55	1.8	0.34	1.6
	Загрязнение	16000	16000	490	520	22	75	9.2	4.00	14.0

Примечание. В скобках приведена доля (%) каждой из фракций от общего содержания металла; символом * обозначено суммарное содержание металла в составе интра- и экстрацеллюлярной фракций.

в количествах, от 2 до 13 раз превышающих фоновые значения. Содержание Zn и Mn в слоевищах лишайников в рассматриваемых местообитаниях отличалось существенно меньше (см. табл. 1).

Локализация металлов в талломах лишайников. Результаты оценки локализации металлов в лишайниках, обитающих в условиях хронического загрязнения, показали многократное увеличение абсолютных значений содержания Al и Fe во всех фракциях по сравнению с величинами для

фоновой территории. Суммарное содержание Al в составе интра- и экстрацеллюлярной фракций увеличилось в 8–20 раз, Fe – в 4–20 раз. Содержание Ti в этих фракциях увеличивалось более чем в 7 раз для *L. pulmonaria* и *P. aphthosa*, в то время как у *H. physodes* снизилось наполовину. Для всех видов отмечен рост содержания в остаточной фракции Al – в 11–27 раз, Fe – в 9–24 и Ti – в 5–12. Накопление этих металлов на поверхности лишайников в пылевой фракции на загрязненных участках возрастало на 1–2 порядка.

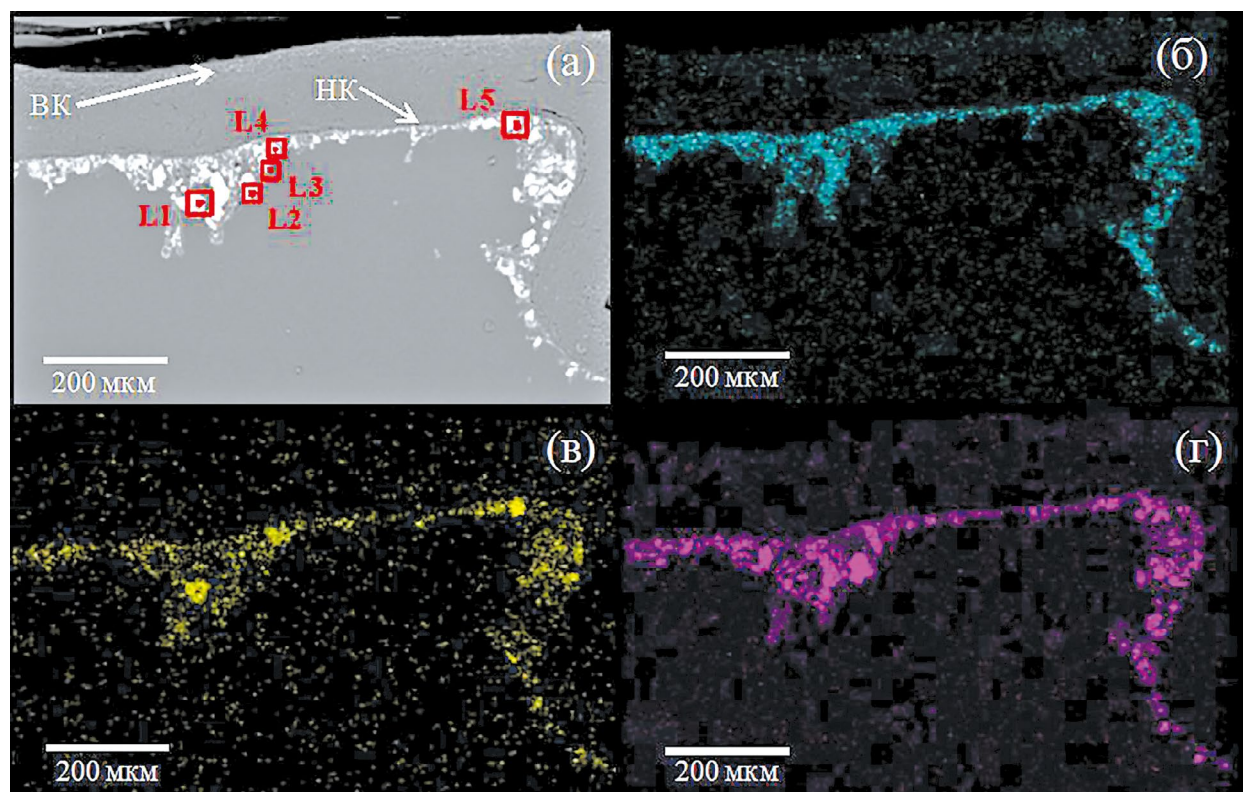


Рис. 1. Изображение поперечного среза таллома *Lobaria pulmonaria*, полученное в режиме детектирования обратно рассеянных электронов (а) и карты распределения элементов: б – Al, в – Fe, г – Si. Областям с яркой окраской соответствует максимальное содержание элемента; ВК – верхний коровый слой, НК – нижний коровый слой; элементный состав минеральных частиц (L1–L5) приведен в табл. 2.

Содержание Co и Ni в пылевой фракции превышало фоновые значения более чем в 15 раз, в экстрагируемых раствором ЭДТА- Na_2 фракциях (суммарно) – в 2–8 раз. Накопление Zn в интрацеллюлярной фракции талломов *H. physodes* и *P. aphthosa* на загрязненной территории было ниже, а в пылевой фракции выше, чем на фоновом участке. Для слоевищ *L. pulmonaria* отмечена обратная закономерность.

Содержание Cu в экстрацеллюлярной фракции талломов *L. pulmonaria* и *H. physodes* в условиях загрязнения увеличивалось в 2–3 раза, а у *P. aphthosa* более чем на порядок. Основной вклад в изменение общего содержания Cu в талломах эпифитных видов *L. pulmonaria* и *H. physodes* вносила пылевая фракция, в составе которой обнаруживали около половины общего накопления меди. У эпигейного вида *P. aphthosa* основная часть Cu была сосредоточена в интрацеллюлярной и остаточной фракциях.

Внутриклеточное содержание Mn в талломах на импактной территории незначительно отличалось от фоновых значений. В условиях пылевого

загрязнения для *P. aphthosa* отмечено двукратное увеличение экстрацеллюлярно связанного Mn, при этом в талломах *L. pulmonaria* и *H. physodes* отмечали практически двукратное снижение. Содержание Mn в остаточной фракции возрастало у всех исследованных видов.

Распределение минеральных частиц в талломах лишайников. Согласно данным сканирующей электронной микроскопии, оставшиеся после удаления пылевой фракции мелкодисперсные частицы имели контрастное распределение в талломах разных видов лишайников. У *L. pulmonaria* нерастворимые в воде минеральные частицы были расположены на поверхности талломов. При этом большую их часть обнаруживали на нижнем коровом слое, и она была ассоциирована с ризинами (рис. 1а). В талломах *P. aphthosa* (рис. 2а) большая часть оставшихся после удаления поверхностного пылевого загрязнения микрочастиц была локализована в медулярном слое, образованном рыхло расположенными гифами микобионта. Непосредственно под верхним параплектенхимным коровым слоем количество минеральных включений было минимально.

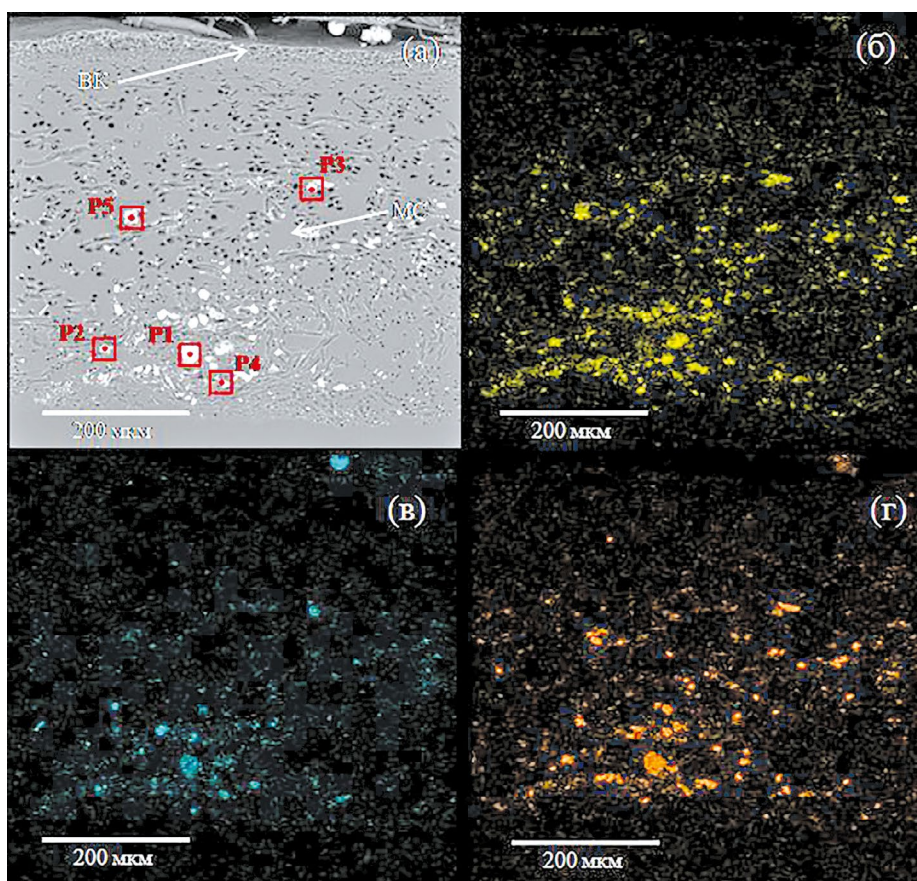


Рис. 2. Изображение поперечного среза таллома *Peltigera aphthosa*, полученное в режиме детектирования обратно рассеянных электронов (а) и карты распределения элементов: б – Al, в – Fe, г – Si. Областям с яркой окраской соответствует максимальное содержание элемента; BK – верхний коровый слой, MC – медулярный слой; элементный состав минеральных частиц (P1–P5) приведен в табл. 2.

Анализ EDX-спектров, обнаруженных в талломах частиц (табл. 2), показал, что в их составе преобладают соединения Al, Fe,

Si. Помимо этого, для некоторых частиц характерна сравнительно высокая массовая доля Ca, Mg и Ti.

Таблица 2. Массовая доля элементов в пылевых частицах, %

№ частицы	Na ₂ O	MgO	Al ₂ O ₃	SiO ₂	P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO	TiO ₂	MnO ₂	Fe ₂ O ₃
<i>Lobaria pulmonaria</i>										
L1	-	-	1.7	3.2	-	-	-	-	-	66.4
L2	3.9	-	29.0	51.7	-	0.2	12.3	-	-	0.9
L3	1.2	2.5	16.2	56.5	-	9.2	0.7	0.8	-	5.6
L4	-	-	80.9	1.3	-	-	-	-	-	2.1
L5	-	-	2.3	1.0	-	-	0.2	25.8	1.5	58.7
<i>Peltigera aphthosa</i>										
P1	5.5	-	27.8	57.5	-	0.3	10.0	-	-	0.7
P2	-	1.2	26.9	22.1	0.4	-	0.2	-	-	35.7
P3	3.2	-	30.7	50.3	-	-	14.4	-	-	0.7
P4	-	-	3.4	0.7	0.3	-	0.2	1.8	0.8	71.8
P5	-	15.8	2.4	52.0	-	-	18.2	0.9	-	10.6

Примечание. * – номера частиц соответствуют приведенным на рис. 1 и 2 обозначениям; прочерк означает, что содержание элемента было ниже предела обнаружения.

Карты распределения элементов, полученные на основании анализа спектров характеристического рентгеновского излучения, показали, что в талломах *L. pulmonaria* наиболее высокие концентрации Al, Fe и Si обнаружены на наружной части нижнего корового слоя и в области ризин (см. рис. 16–г). В талломах *P. aphthosa* распределение концентраций Al, Fe и Si также имело выраженный дискретный характер (см. рис. 2 б–г). Области с высокой концентрацией металлов и кремния соответствовали положению обнаруженных на поперечных срезах талломов минеральных включений, имеющих форму рыхлых агрегатов, зерен или чешуек, локализованных в сердцевинном слое.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Накопление поллютантов лишайниками зависит от их физико-химических свойств и интенсивности эмиссии, удаленности местообитаний от источника выбросов, погодных условий, сезона отбора образцов, положения талломов в пространстве [1, 17]. Абсолютные величины общего содержания металлов в талломах *L. pulmonaria* и *P. aphthosa* на условно-фоновой территории (см. табл. 1) находились в верхней части диапазона региональных значений, а для слоевищ *H. physodes* несколько превышали показатели, приводимые в литературе для лишайников на территориях, не испытывающих значительного влияния источников техногенного загрязнения [18, 19]. Рост накопления металлов в талломах *H. physodes* может указывать на расширение площади импактной территории рудника и изменения поступления к лишайникам, отобраным на периферии условно-фоновой участка, пылевых выбросов при разработке новых карьеров или прокладке межпромысловых и технологических дорог.

Химический состав талломов, отобранных вблизи рудника, в значительной степени отражал элементный профиль образующихся при добыче высокожелезистых бокситов пылевых выбросов. Существенная аккумуляция талломами Al, Fe и Ti вполне закономерна, так как химические соединения этих металлов составляют основную часть добываемой рудной массы и вмещающих пород [20]. Накопление Ni, Co и Pb также можно считать следствием седиментации на талломах взвешенных частиц (содержание этих металлов в бокситах и сопутствующих им породах измеряется десятками и сотнями г/т).

Полученные нами данные указывают на значительную способность листоватых лишайников

аккумулировать поступающие мелкодисперсные частицы и содержащиеся в них металлы независимо от приуроченности к субстрату. В импактной зоне СТБР содержание металлов в эпифитных видах *L. pulmonaria* и *H. physodes* было сопоставимо с накоплением поллютантов эпигейным лишайником *P. aphthosa*. Ранее было показано [21, 22], что столь высокие значения накопления Fe и Al характерны для лишайников при сухом осаждении на их поверхности пылевых частиц. Сопоставимые с полученными нами значения содержания Fe (32–90 г/кг) обнаруживали на загрязненных предприятиями сталелитейной промышленности территориях в талломах *Peltigera rufescens* [21]. Содержание Fe и Al в *Circinaria aspera*, обитающего в аридных условиях и поглощающего металлы, поступающие на поверхность слоевищ при сухом осаждении частиц, может достигать нескольких процентов от сухой массы талломов [22].

Одним из показателей, используемых для оценки загрязнения среды под воздействием металлургических предприятий, считается отношение абсолютных значений содержания железа и титана в талломах лишайников [23]. В норме соотношение Fe/Ti для лишайников определяется региональными кларками этих элементов и составляет 6–9 отн. ед., отклонение Fe/Ti в большую сторону указывает на поступление железа от источников загрязнения. У обитающих в условиях хронического загрязнения выбросами СТБР листоватых лишайников отношение Fe/Ti составляло 27–47 отн. ед., тогда как для талломов с фоновой территории эта величина равнялась 15–21 отн. ед. Более селективным индикатором поступления в атмосферу выбросов от объектов бокситового рудника можно рассматривать соотношение содержания в слоевищах лишайников Al и Mn. Для талломов с фоновых участков величина Al/Mn составляла 1–2 отн. ед., в то время как для загрязненной территории это значение находилось в диапазоне от 30 до 60 отн. ед. Показатель Al/Mn может быть полезен для разграничения поступления алюминия в талломы лишайников в результате естественного биогеохимического цикла от притока Al с атмосферными выбросами при добыче бокситов.

Входящие в состав бокситов минералы представлены преимущественно гидратами оксида алюминия, оксидами железа, титана и кремния, гидроксидами и силикатами железа [20]. Данные соединения характеризуются низкой гео-

химической подвижностью и, попадая на слоевища лишайников, концентрируются в виде слаборастворимых мелкодисперсных частиц (см. рис. 1, 2). Относительно инертные химические соединения металлов, попадая на талломы, могут подвергаться химической модификации под воздействием внешних (низкие значения pH атмосферных осадков и подкрановых вод) или внутренних (лишайниковые и карбоновые кислоты) факторов [10]. Значительное увеличение содержания Al и Fe в составе интра- и экстрацеллюлярной фракций в талломах на импактной территории СТБР (см. табл. 1) указывает на возможность частичного перехода локализованных в пылевой и остаточной фракциях алюминия и железа в водорастворимые формы и последующее связывание с ионообменными группами и специфическими белками клеточных стенок и внутриклеточному поглощению.

Учитывая, что интрацеллюлярное поглощение металлов тесно связано с метаболизмом талломов [3, 8], изменение ионного гомеостаза может быть причиной токсического действия пылевых частиц. Как было показано ранее, талломы *H. physodes*, отобранные вблизи производственных объектов СТБР, характеризовались наличием некрозов центральных участков и лопастей, изменениями анатомии верхнего корового слоя [12], высоким уровнем окислительного стресса [16].

Обнаруженные нами изменения общего содержания Cu, Zn, Pb, Co, Ni и накопление этих металлов в экстра- и интрацеллюлярной фракциях в талломах зависели как от рассматриваемого элемента, так и от видовой принадлежности лишайников. Вполне вероятно, что причины различного фракционирования этих металлов связаны с взаимодействием ряда факторов (химический состав и pH субстрата и влаги, поступающей с осадками и подкрановыми водами к талломам, различия в динамике гидратации и дегидратации слоевищ, химическая структура синтезируемых лишайниковых кислот, сродство центров связывания на поверхности клеточных стенок микобионтов к различным катионам металлов), влияющих на кинетику и термодинамику ионного обмена, рассмотрение которых требует дополнительных исследований. Следует отметить, что содержание Cu, Pb, Co, Ni в экстрацеллюлярной фракции в условиях пылевого загрязнения оставалось на относительно низком уровне (см. табл. 1).

Расчет главных компонент (рис. 3) показал, что у лишайников с фоновой территории большин-

ство исследуемых металлов по их относительной доле от общего содержания было сгруппировано в ЭДТА-Na₂-экстрагируемой (суммарное содержание различных форм элемента в интра- и экстрацеллюлярной фракциях) и остаточной фракциях. В талломах *L. pulmonaria* и *H. physodes* с импактной территории основная часть рассматриваемых металлов группировалась в пылевой фракции, и только Mn и Zn характеризовались преимущественно интра- и экстрацеллюлярным поглощением. У талломов *P. aphthosa* на загрязненной территории исследуемые элементы (за исключением Fe и Al) были сгруппированы в ЭДТА-Na₂-экстрагируемой и остаточной фракциях. Можно полагать, что распределение металлов в талломах между различными фракциями в условиях загрязнения имеет видоспецифичный характер.

Предположение об отличительных особенностях распределения металлов у разных видов лишайников подтверждают данные электронной микроскопии. В талломах *L. pulmonaria* наиболее высокие концентрации Al, Fe и Si обнаружены на нижнем коровом слое и в области ризин. При этом не наблюдалось равномерного распределения элементов в клетках нижней поверхности слоевищ и отходящих от нее пучков гиф, как того следовало бы ожидать в случае связывания элементов во внутриклеточной и экстрацеллюлярной фракциях. В талломах *P. aphthosa* распределение Al, Fe и Si также имело выраженный дискретный характер. Области с высокой концентрацией металлов и кремния соответствовали положению минеральных включений, локализованных в сердцевинном слое. В работе [9] наглядно продемонстрировано, что обработка талломов *H. physodes* раствором Pb(NO₃)₂ приводит к значительному росту концентрации свинца в верхнем и нижнем коровых слоях. Сходная картина латерального распределения концентрации Co, преимущественно локализованного в нижнем коровом слое, отмечена при обработке талломов *Permotrema tinctorum* раствором CoCl₂ [24], что указывает на вовлечение механизмов сорбции на поверхности клеток или внутриклеточного поглощения ионов этого металла из растворов солей. При этом спецификой аккумуляции при внесении водорастворимых соединений Pb и Co являлось отсутствие резких изменений концентрации металлов в коровых слоях. В случае же сухого осаждения минеральных частиц на поверхности талломов отмечается резкий градиент содержания металлов в наружных и более глубоких слоях верхней коры слоевищ *Circinaria*

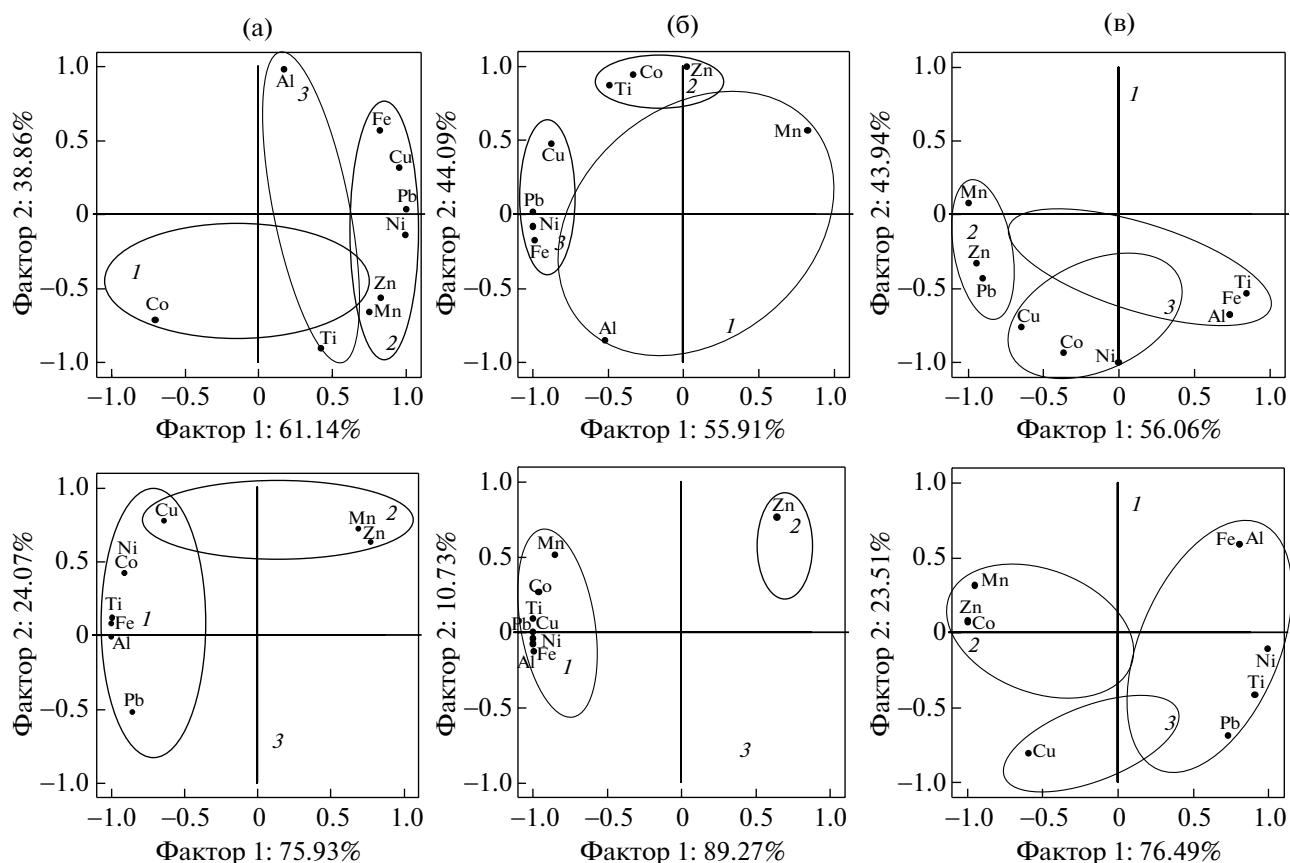


Рис. 3. Анализ главных компонент распределения относительной доли металлов в разных фракциях из талломов лишайников *Hypogymnia physodes* (а), *Lobaria pulmonaria* (б) и *Peltigera aphthosa* (в): сверху представлены результаты для талломов из условно-фоновой территории, снизу – для отобранных в импактной зоне. Сплошной линией объединены металлы, вносящие основную нагрузку в Фактор 1 (горизонтальная ось) и/или Фактор 2 (вертикальная ось); 1, 2 и 3 – пылевая, ЭДТА- Na_2 -экстрагируемая и остаточная фракции металлов соответственно.

aspera [22], т.е. сходная с обнаруженной нами по результатам электронно-микроскопических исследований закономерность распределения концентраций Al, Fe и Si.

Важно отметить, что в слоевищах *P. aphthosa*, лишённых нижнего корового слоя, минеральные включения локализованы медуллярно и отмечаются практически по всей толще таллома (см. рис. 2), а содержание Al и Fe в остаточной фракции достигало 8500 мг/кг (см. табл. 1). В слоевищах *L. pulmonaria* и *H. physodes* с развитыми нижним и верхним коровыми слоями, препятствующими проникновению частиц в медуллярную часть талломов, содержание Al и Fe в составе остаточной фракции было в 2–3 раза меньше. Противоположная тенденция отмечалась при сравнении содержания этих металлов в пылевой фракции. При сопоставимых значениях общего накопления Al и Fe слоевища *H. physodes* и *L. pulmonaria* в 1.7–2.5 раза пре-

восходили талломы *P. aphthosa* по содержанию металлов в составе мелкодисперсных частиц на поверхности талломов. Следовательно, распределение минеральных частиц у рассматриваемых видов лишайников в существенной степени зависело от морфологических особенностей слоевищ и определялось наличием нижнего корового слоя. Полученные данные хорошо согласуются с представлениями о влиянии характеристик поверхности талломов лишайников на эффективность захвата и удержания минеральных частиц [1, 25, 26].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволило выявить особенности накопления металлов в слоевищах листоватых лишайников, обитающих в условиях хронического загрязнения выбросами бокситового рудника. Максимальные уровни аккумуляции выявлены для Al и Fe, отмечен рост относитель-

но фоновых значений общего содержания Ti, Cu, Pb, Co и Ni. Показана возможность применения показателя Al/Mn (соотношение абсолютных значений массовых долей Al и Mn) для оценки поступления к лишайникам алюминия в результате эмиссии в окружающую среду пылевых выбросов при добыче бокситов. Накапливаемые лишайниками металлы существенно отличались по их распределению между интра- и экстрацеллюлярной, остаточной и пылевой фракциями. В условиях полиметаллического загрязнения от объектов СТБР изученные виды аккумулировали избыток металлов преимущественно в составе слабо закрепленных на поверхности талломов пылевых частиц, а также связанных с ризинами или инкорпорированных в медулярный слой минеральных включений. Локализация минеральных частиц в существенной степени зависела от строения слоевищ. Присутствие у талломов параплектенхимных верхнего и нижнего коровых слоев препятствовало проникновению мелкодисперсных металлосодержащих частиц в медулярный слой, в то время как для слоевищ без нижнего корового слоя минеральные включения обнаружены по всей толще слоевищ.

Следует отметить, что часть поступающих к лишайникам с пылевыми выбросами металлов проникала через плазматические мембраны симбионтов и накапливалась в интрацеллюлярной фракции, что может приводить к негативным последствиям для фото- и микобионта. Мы не исключаем физического влияния осажденных минеральных частиц на функциональное состояние лишайников. Значительное накопление пылевых частиц может существенно изменять интенсивность и спектральный состав поступающего к фотобионту светового потока, оказывать влияние на влагоудерживающую способность слоевищ, нуклеацию льда в межклеточных пространствах талломов. Оценка влияния атмосферных выбросов при добыче бокситов на функциональное состояние отдельных компонентов лишайникового симбиоза требует проведения дальнейших исследований.

Исследование выполнено в рамках НИОКТР «Фотосинтез, дыхание и биоэнергетика растений и фототрофных организмов (физиолого-биохимические, молекулярно-генетические и экологические аспекты)» (№ 122040600021-4).

Авторы выражают благодарность сотрудникам Института геологии Коми НЦ УрО РАН

А. Е. Шмырову, А. С. Шуйскому и Е. М. Тропникову за подготовку препаратов, выполнение электронной микроскопии и рентгеновского микроанализа образцов лишайников.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Настоящая статья не содержит описания каких-либо экспериментов с участием людей и животных в качестве объектов исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Garty J. Biomonitoring atmospheric heavy metals with lichens: Theory and application // Crit. Rev. Plant. Sci. 2001. V. 20. № 4. P. 309–371.
<https://doi.org/10.1080/20013591099254>
2. Bačkor M., Loppi S. Interactions of lichens with heavy metals // Biol. Plant. 2009. V. 53. № 2. P. 214–222.
<https://doi.org/10.1007/s10535-009-0042-y>
3. Rola K. Insight into the pattern of heavy-metal accumulation in lichen thalli // J. Trace Elem. Med. Biol. 2020. V. 61. P. 126512.
<https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126512>
4. Bačkor M., Kováčik J., Dzubaj A., Bačkorová M. Physiological comparison of copper toxicity in the lichens *Peltigera rufescens* (Weis) Humb. and *Cladonia arbuscula* subsp. mitis (Sandst.) Ruoss // Plant Growth Regul. 2009. V. 58. № 3. P. 279–286.
<https://doi.org/10.1007/s10725-009-9376-x>
5. Bačkor M., Kováčik J., Piovár J. et al. Physiological aspects of cadmium and nickel toxicity in the lichens *Peltigera rufescens* and *Cladonia arbuscula* Subsp. mitis // Water Air Soil Pollut. 2010. V. 207. № 1–4. P. 253–262.
<https://doi.org/10.1007/s11270-009-0133-6>
6. Parviainen A., Casares-Porcel M., Marchesi C., Garrido C. J. Lichens as a spatial record of metal air pollution in the industrialized city of Huelva (SW Spain) // Environ. Pollut. 2019. V. 253. P. 918–929.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.07.086>
7. Mikhailova I. N., Sharunova I. P. Dynamics of heavy metal accumulation in thalli of the epiphytic lichen *Hypogymnia physodes* // Russ. J. Ecol. 2008. V. 39. № 5. P. 346–352.
<https://doi.org/10.1134/S1067413608050068>
8. Beckett R. P., Brown D. H. The control of cadmium uptake in the lichen genus *Peltigera* // J. Exp. Bot. 1984. V. 35. № 7. P. 1071–1082.
<https://doi.org/10.1093/jxb/35.7.1071>
9. Budka D., Przybyłowicz W. J., Mesjasz-Przybyłowicz J., Sawicka-Kapusta K. Elemental distribution in lichens transplanted to polluted forest sites near Kraków (Poland) // Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B. 2002. V. 189. № 1–4. P. 499–505.
[https://doi.org/10.1016/S0168-583X\(01\)01131-4](https://doi.org/10.1016/S0168-583X(01)01131-4)

10. Purvis O.W., Pawlik-Skowrońska B. Lichens and metals // British Mycological Society Symposia Series. Amsterdam: Elsevier, 2008. V. 27. P. 175–200.
[https://doi.org/10.1016/S0275-0287\(08\)80054-9](https://doi.org/10.1016/S0275-0287(08)80054-9)
11. Degtjarenko P., Matos P., Marmor L. et al. Functional traits of epiphytic lichens respond to alkaline dust pollution // Fungal Ecol. 2018. V. 36. P. 81–88.
<https://doi.org/10.1016/j.funeco.2018.08.006>
12. Pystina T.N., Kuznetsova E.G., Novakovskiy A.B. Reaction of the lichen *Hypogymnia physodes* to dust pollution in the influence zone of the middle timan bauxite mine // Contemp. Probl. Ecol. 2023. V. 16. № 3. P. 379–389.
<https://doi.org/10.1134/S1995425523030101>
13. Grantz D., Garner J. H., Johnson D. Ecological effects of particulate matter // Environ. Int. 2003. V. 29. № 2–3. P. 213–239.
[https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(02\)00181-2](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(02)00181-2)
14. Афанасенко О.В., Бармин А.В., Потапова М.А. Землянский В. Н. Исследования экологической безопасности и мониторинг воздействия источников загрязнения на территории Средне-Тиманского бокситового рудника ОАО «Боксит Тимана» // Изв. Коми научного центра УрО РАН. 2010. Т. 2. № 2. С. 44–47.
15. Branquinho C., Brown D.H. A method for studying the cellular location of lead in lichens // Lichenologist. 1994. V. 26. № 1. P. 83–90.
<https://doi.org/10.1006/lich.1994.1007>
16. Головки Т.К., Шелякин М.А., Захожий И.Г. и др. Реакция лишайников на загрязнение среды при добыче бокситовой руды в таежной зоне // Теоретическая и прикладная экология. 2018. № 2. С. 44–53.
<https://doi.org/10.25750/1995-4301-2018-2-044/2-053/1>
17. Wolterbeek H. T., Garty J., Reis M. A., Freitas M. C. Bio-monitors in use: lichens and metal air pollution // Trace Metals and Other Contaminants in the Environment. Elsevier. 2003. V. 6. P. 377–419.
[https://doi.org/10.1016/S0927-5215\(03\)80141-8](https://doi.org/10.1016/S0927-5215(03)80141-8)
18. Василевич М. И., Василевич Р. С. Особенности накопления тяжелых металлов эпифитными лишайниками в таежной зоне фоновых территорий Европейского Северо-Востока России // Экология. 2018. № 1. С. 17–23.
<https://doi.org/10.7868/S036705971801002X>
19. Табаленкова Г.Н., Далькэ И.В., Головки Т.К. Элементный состав некоторых видов лишайников бореальной зоны на Европейском Северо-Востоке // Изв. Самарского научного центра РАН. 2016. Т. 18. № 2. С. 221–225.
20. Вахрушев А.В., Лютое В.П., Силаев В.И. Кристаллохимические особенности железистых минералов в бокситах Вежаю-Ворыквинского месторождения (Средний Тиман) // Вестник Института геологии Коми НЦ УрО РАН. 2012. № 10. С. 14–18.
21. Seaward M.R.D. Lichen ecology of the Scunthorpe Heathlands. I. Mineral accumulation // Lichenologist. 1973. V. 5. № 5–6. P. 423–433.
<https://doi.org/10.1017/S0024282973000472>
22. Пауков А.Г., Круглова Е.П., Пряхина В.И. и др. Накопление элементов в талломах представителей рода *Circinaria link* (лихенизированные аскомицеты) в аридных местообитаниях // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. 2021. Т. 20. № 1. С. 341–342.
<https://doi.org/10.14258/pbssm.2021068>
23. Clark B.M., Mangelson N.F., St. Clair L.L. et al. Analysis of rocky mountain lichens using PIXE: Characteristics of iron and titanium // AIP Conference Proceedings – American Institute of Physics. 1997. P. 559–562.
<https://doi.org/10.1063/1.52702>
24. Ohnuki T., Sakamoto F., Kozai N. et al. Micro-pixe study on sorption behaviors of cobalt by lichen biomass // Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B. 2003. V. 210. P. 407–411.
[https://doi.org/10.1016/S0168-583X\(03\)01048-6](https://doi.org/10.1016/S0168-583X(03)01048-6)
25. Puckett K.J., Finegan E.J. An analysis of the element content of lichens from the Northwest Territories, Canada // Can. J. Bot. 1980. V. 58. № 19. P. 2073–2089.
<https://doi.org/10.1139/b80-240>
26. Chiarenzelli J.R., Aspler L.B., Ozarko D.L. et al. Heavy metals in lichens, southern district of keewatin, Northwest Territories, Canada // Chemosphere. 1997. V. 35. № 6. P. 1329–1341.
[https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(97\)00168-9](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(97)00168-9)

Accumulation and Localization of Metals in Lichen Thallus under Conditions of Dust Pollution During Open Mining of Bauxite Deposits

I. G. Zakhozhiy¹, *, M. A. Shelyakin¹

¹*Institute of Biology, Komi Scientific Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Russia, 167982, Syktyvkar*

**e-mail: zakhozhiy@ib.komisc.ru*

We studied the accumulation and localization of metals in the foliose lichens *Lobaria pulmonaria*, *Hypogymnia physodes* and *Peltigera aphthosa*, living in the impact zone of the Sredne-Timansky bauxite mine. A significant accumulation of Al (16–19 g/kg), Fe (16–20 g/kg) and Ti (0.3–0.7 g/kg) by thalli was revealed. From 29 to 82% of the total content of these metals is localized in dust particles weakly attached to the surface of the thalli. The total proportion of intra- and extracellularly bound Al, Fe and Ti did not exceed 11%. 15–56% of these metals were found in the residual fraction. An increase in the content of Cu, Pb, Co and Ni was detected in thalli collected in the impact area. It has been shown that the localization of metals in thalli depends both on the element under consideration and on the morphological and anatomical characteristics of the thalli: in *L. pulmonaria*, fine mineral particles were localized on the surface of the thalli; in the thalli of *P. aphthosa*, which do not have a lower cortex, mineral inclusions were found throughout the entire thickness of the thalli.

Keywords: lichenized fungi, Komi Republic, Middle Timan, bauxite, pollutants, metals, accumulation, sequential extraction, electron microscopy