

Научная статья

УДК 582.29:57.042:577.115

EDN: UISMLE

DOI: 10.21285/2227-2925-2023-13-4-532-544



Изменение липидного состава лишайника *Peltigera canina* при действии повышенной температуры

Ю.Н. Валитова*, В.Р. Хабибрахманова*, О.П. Гурьянов*,
В.Л. Уваева*, А.Ф. Хайруллина*, Д.Ф. Рахматуллина*, Е.И. Галеева*,
Т.В. Трифонова*, Л.В. Викторова*, Ф.В. Минибаева*

*Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение
Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук»,
г. Казань, Российская Федерация

**Казанский национальный исследовательский технологический университет,
г. Казань, Российская Федерация

Аннотация. Организмы-экстремофилы способны выживать в экстремальных условиях посредством уникальных механизмов устойчивости. К таким организмам относятся лишайники – симбиотические ассоциации грибов и водорослей и/или цианобактерий. Высокая стрессовая устойчивость лишайников помимо прочих факторов обусловлена их способностью синтезировать широкий спектр метаболитов, в том числе разнообразные по химической структуре липидные соединения. Несмотря на очевидную важность, биохимические механизмы стрессовой устойчивости лишайников, опосредованные изменениями липидного профиля, изучены недостаточно полно. Пельтигеровые лишайники являются обособленным отделом лишайников, для которых характерны высокие темпы роста и индексы метаболической активности. Учитывая умеренный климат произрастания данных лишайников, можно предположить, что они могут обладать повышенной чувствительностью к перепадам температур. Эти факторы обусловили выбор эпигейного лишайника *Peltigera canina* в качестве объекта нашего исследования. В настоящей работе были изучены стресс-индуцированные изменения редокс-статуса лишайника *P. canina*, а также изменения его липидного состава при действии повышенной (40 °C) температуры. Воздействие неблагоприятной температуры на гидратированные таломы лишайника приводило к увеличению содержания перекиси водорода, фенолксидазной активности, а также повышению уровня перекисного окисления липидов, что является важной составляющей стрессового ответа лишайника. Стресс-индуцированное изменение редокс-статуса таломов лишайника стимулировало увеличение содержания антиоксидантных агентов липофильной природы: резко возрос уровень α -токоферола, увеличивалось содержание каротиноидов, в частности β -каротина. Таким образом, накопление липофильных антиоксидантов является важной частью липид-опосредованного стрессового ответа лишайника *P. canina* на повышение температуры.

Ключевые слова: лишайник, липиды, каротиноиды, α -токоферол, окислительный стресс, температурный стресс

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук» (оценка редокс-параметров), а также при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 22-14-00362 (Ю.Н. Валитова, анализ липидного состава).

Для цитирования: Валитова Ю.Н., Хабибрахманова В.Р., Гурьянов О.П., Уваева В.Л., Хайруллина А.Ф., Рахматуллина Д.Ф. [и др.]. Изменение липидного состава лишайника *Peltigera canina* при действии повышенной температуры // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 4. С. 532–544. DOI: 10.21285/2227-2925-2023-13-4-532-544. EDN: UISMLE.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Changes in the lipid composition of *Peltigera canina* at an elevated temperature

Juliya N. Valitova*, Venera R. Khabibrakhmanova*, Oleg P. Guryanov*,
Veronika L. Uvaeva*, Aisylu F. Khairullina*, Daniya F. Rakhmatullina*, Ekaterina I. Galeeva*,
Tatyana V. Trifonova*, Larisa V. Viktorova*, Farida V. Minibayeva*

*Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics of Kazan Science Centre of the Russian Academy of Science,
Kazan, Russian Federation

**Kazan National Research Technological University, Kazan, Russian Federation

© Валитова Ю.Н., Хабибрахманова В.Р., Гурьянов О.П., Уваева В.Л., Хайруллина А.Ф., Рахматуллина Д.Ф., Галеева Е.И., Трифонова Т.В., Викторова Л.В., Минибаева Ф.В., 2023

Abstract. Extremophile organisms can survive under extreme conditions through tolerance mechanisms. Such organisms include lichens, which are symbiotic associations of fungi and algae and/or cyanobacteria. Among other factors, the high stress tolerance of lichens can be attributed to their ability to synthesize a wide range of metabolites, including chemically diverse lipid compounds. Despite their obvious relevance, the biochemical mechanisms of stress tolerance in lichens that are mediated by changes in the lipid profile remain understudied. Peltigerous lichens constitute a separate division of lichens characterized by high growth rates and metabolic activity indices. Taking into account the temperate climate in which these lichens grow, it can be assumed that they may be highly sensitive to temperature fluctuations. These factors led to the choice of *Peltigera canina*, epigeic lichen, as the subject matter of this study. The present work examined stress-induced changes in the redox status of *P. canina*, as well as changes in its lipid composition at an elevated temperature (40 °C). The exposure of hydrated lichen thalli to an unfavorable temperature led to an increase in the level of hydrogen peroxide, phenoloxidase activity, and lipid peroxidation, which constitutes an important part of stress response in lichen. The stress-induced changes in the redox status of lichen thalli stimulated an increase in lipophilic antioxidant agents: a dramatic increase in the level of α -tocopherol and an increase in carotenoids, specifically β -carotene. Thus, the accumulation of lipophilic antioxidants constitutes an important part of the lipid-mediated stress response of *P. canina* to temperature elevation.

Keywords: lichen, lipids, carotenoids, α -tocopherol, oxidative stress, temperature stress

Funding. This work was partially performed within the framework of the state assignment of the FRC KazSC RAS (analysis of redox parameters), and with the financial support of the Russian Science Foundation, grant no. 22-14-00362 (J.N. Valitova, analysis of lipid composition).

For citation: Valitova J.N., Khabibrakhmanova V.R., Guryanov O.P., Uvaeva V.L., Khairullina A.F., Rakhmatullina D.F., et al. Changes in the lipid composition of *Peltigera canina* at an elevated temperature. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(4):532-544. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2023-13-4-532-544. EDN: UISMLE.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема стрессовой устойчивости живых организмов является предметом пристального внимания ученых в течение многих лет. В связи с этим повышенный интерес исследователей вызывают экстремофилы – организмы, способные выживать в экстремальных условиях посредством уникальных механизмов устойчивости. К таким организмам относятся и лишайники, которые представляют собой симбиотические ассоциации между грибами (микобионтами) и водорослями и/или цианобактериями (фотобионтами). Температурный стресс является достаточно обычным явлением для лишайников, произрастающих зачастую в неблагоприятных условиях. В настоящее время известно, что большинство лишайников в высушенном состоянии чрезвычайно устойчивы к высокотемпературному стрессу, тогда как гидратированные талломы обладают значительно большей чувствительностью к изменению температуры [1, 2]. Интересной группой лишайников являются лишайники порядка Пельтигеровые, широко распространенные по всему миру и произрастающие в умеренном климате. Данные лишайники являются обособленным отделом лишайников и относятся к отдельной ветви лишайникового сообщества. Известно, что они отличаются высокими темпами роста и активным редокс-метаболизмом [3]. В связи с этим можно предположить, что пельтигеровые лишайники продемонстрируют выраженную реакцию к действию неблагоприятных температур. Одним из известных представителей пельтигеровых является эпигейный двухкомпонентный цианолишайник *Peltigera canina*, который был выбран в качестве объекта наших исследований. Известно, что важной составляющей стрессового ответа живого организма на воздействие абиотических стрессовых факторов является увеличение образования активных форм кислорода (АФК) [4] и развитие окислительного стресса, который сопровождается перекисным окислением липидов и

повреждением клеточных мембран. В связи с этим актуально изучение стресс-индуцированных изменений в липидном профиле лишайников, в том числе в содержании липофильных соединений, обладающих антиоксидантными свойствами. В настоящее время биохимические механизмы стрессовой устойчивости лишайников, опосредованные изменениями липидного профиля, изучены недостаточно полно. Целью настоящей работы было изучение изменений липидного состава лишайника *P. canina* при действии повышенной температуры. Понимание биохимических основ липид-опосредованных стрессовых ответов лишайников поможет более углубленно и детально разобраться в механизмах стрессовой устойчивости экстремофилов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом исследования служили талломы лишайника *P. canina*, собранного на территории Республики Татарстан в мае 2023 года. После сбора и предварительной очистки талломы лишайника высушивали при комнатной температуре. Высушенный материал помещали в морозильную камеру (минус 20 °C) на хранение до использования в экспериментах.

Стрессовая обработка лишайника *Peltigera canina*. Талломы лишайника, выложенные в один слой, гидратировали в контейнерах на вискозных салфетках, увлажненных дистиллированной водой, в течение двух суток при температуре 5 °C. Перед стрессовой обработкой контейнеры с гидратированными талломами оставляли на 2 ч при комнатной температуре, после чего их раскладывали по 1,0±0,1 г на диски фильтровальной бумаги, смоченной 1,5 мл дистиллированной воды, которые были уложены на чашки Петри. Для стрессовой обработки чашки Петри с образцами закрывали, помещали в термостат ТСО-1/80 СПУ (Смоленское СКТБ СПУ, Россия) и оставляли при температуре 40 °C на 30 мин, 1 ч, 2 ч, 3 ч с целью изучения динамики образования

перекиси при действии повышенной температуры для понимания окислительных процессов, происходящих в талломах лишайника при температурном стрессе. В остальных экспериментах опытные образцы помещались в термостат и оставлялись при температуре 40 °С на 3 ч, поскольку стресс-индуцированные изменения липидного состава талломов происходят в течение более длительного времени, чем быстрые стрессовые изменения редокс-статуса клеток. Контролем во всех экспериментах служили гидратированные талломы лишайника, выдержанные в течение 2 ч после гидратации при комнатной температуре.

Оводненность талломов лишайника определяли в каждой временной точке высушиванием до постоянного веса на анализаторе влажности АВГ-60 («Госметр», Россия).

Определение уровня перекиси водорода. Определение уровня перекиси водорода производили согласно источникам [5, 6]. Таллом лишайника (1:4 вес/об.) гомогенизировали в 0,05 М растворе Na-фосфатного буфера с pH 6,2, после центрифугировали в течение 10 мин при 11340 g. Концентрацию H_2O_2 в супернатанте определяли с использованием ксиленолового оранжевого в присутствии Fe^{2+} при 560 нм.

Измерение содержания гидроксильного радикала. Измерение содержания гидроксильного радикала осуществляли согласно материалу [7]. Образование гидроксильных радикалов оценивали по скорости окисления дезоксирибозы. 0,5 г таллома лишайника помещали в 20 мл 0,5 М раствора Na-фосфатного буфера с pH 5, содержащего хинон (2 мМ), Fe^{+3} (20 мМ), оксалиновую кислоту (60 мМ), дезоксирибозу (140 мМ). Реакционную смесь перемешивали на качалке в течение 1 ч, после чего были отобраны пробы по 0,99 мл. В качестве «стоп»-раствора в пробы добавляли 0,01 мл 50%-й ортофосфорной кислоты. Подготовленные пробы замораживали. Перед началом анализа их размораживали, отбирали по 0,05 мл раствора образца, добавляли 0,25 мл 2,5%-го раствора трихлоруксусной кислоты и 0,25 мл 1%-го раствора тиобарбитуровой кислоты в 50 мМ растворе гидроксида натрия и доводили объем реакционной смеси до 1 мл дистиллированной водой. Затем смесь нагревали при температуре 90 °С в течение 15 мин и охлаждали. Измерения оптической плотности проводили на спектрофотометре при 532 нм. Результаты анализа были преобразованы в эквивалент малонового диальдегида с использованием коэффициента экстинкции $\mathcal{E}$, равного $156\text{ мМ}^{-1}\times\text{см}^{-1}$.

Определение уровня перекисного окисления липидов. Об уровне перекисного окисления липидов судили по накоплению малонового диальдегида, определяемого по продукту его реакции с тиобарбитуровой кислотой [8]. 0,5 г таллома лишайника растирали с 1,5 мл 20%-го раствора трихлоруксусной кислоты. Гомогенат центрифугировали 5 мин при 11340 g. К 0,05 мл супернатанта добавляли 0,45 мл 20%-го раствора трихлоруксусной кислоты и 0,5 мл 1%-го раствора тиобарбитуровой кислоты в 50 мМ растворе гидроксида натрия. Затем смесь нагревали на кипящей бане при температуре 90 °С в течение 30 мин и охлаждали. Измерения оптической плотности проводили на спектрофотометре

при 532 нм. Для вычисления содержания малонового диальдегида использовали коэффициент экстинкции $\mathcal{E}$, равный $156\text{ мМ}^{-1}\times\text{см}^{-1}$.

Измерение активности редокс-ферментов. Измерение активности редокс-ферментов отслеживали согласно источникам [9, 10]. Ферментный экстракт получали путем гомогенизации 0,1 г лишайника в жидком азоте и последующей экстракции в 2 мл 0,05 М Na-фосфатного буфера с pH 7,0 в течение 1 ч. Гомогенат центрифугировали при 8000 g 30 мин. Активность ферментов определяли спектрофотометрически на приборе UV-1600 (Shimadzu, Япония) в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 1 см. Активность пероксидазы класса III (КФ 1.11.1.7) определяли по скорости окисления 1 мМ о-дианизидина при 460 нм ($\mathcal{E}_{460} = 30,0\text{ мМ}^{-1}\times\text{см}^{-1}$) в присутствии 1 мМ H_2O_2 в 70 мМ Na-цитратном буфере с pH 5,5. Активность каталазы (КФ 1.11.1.6) оценивали по снижению оптической плотности в области светопоглощения H_2O_2 при 240 нм ($\mathcal{E}_{240} = 43,6\text{ М}^{-1}\times\text{см}^{-1}$) ежесекундно в течение 120 с. Реакционная смесь содержала 0,44 мл 0,5 М К, Na-фосфатного буфера с pH 7,0, 0,01 мл экстракта и 0,05 мл 20 мМ H_2O_2 .

Экстрагирование липидов из лишайника *Peltigera canina*. Экстрагирование липидов из лишайника *P. canina* осуществляли согласно методике, описанной в источнике [11]. 1 г таллома лишайника растирали в жидком азоте и добавляли смесь хлороформа и метанола (1:2), для интенсификации извлечения липидов смесь в колбе подвергали обработке ультразвуком при помощи ультразвуковой ванны «Сапфир» («Сапфир», Россия). Выход липидных веществ рассчитывали гравиметрическим методом¹.

Тонкослойная хроматография. Исследование состава липидов проводили с помощью автоматизированной системы для тонкослойной хроматографии фирмы CAMAG (Швейцария). Экстракты липидов растворяли в смеси хлороформа и метанола (1:1) (10 мг/мл). Для хроматографии использовали пластины Cat.N 1.05626.0001 (Merck KGaA, Германия). Нанесение растворов экстрактов и стандартов – α -токоферола, кофермента Q, олеиновой кислоты (Sigma-Aldrich, США, степень чистоты не менее 95%) – на хроматографическую пластину выполняли на автоматическом аппликаторе Linomat 5 (CAMAG, Швейцария) в виде треков шириной 7 мм. Разделение липофильных соединений проводили в автоматической камере для элюирования ADC 2 (CAMAG, Швейцария), линия фронта подвижной фазы составляла 80 мм. В качестве подвижной фазы использовали соединение гексана, этилового эфира и уксусной кислоты (80:20:1). Далее пластины опрыскивали 10%-м раствором H_2SO_4 в этаноле с помощью пульверизатора («Ленхром», Россия), высушивали и нагревали в течение 20 мин при температуре 150 °С. После проводили денситометрическое сканирование хроматографических пластин на спектроденситометре TLC Scanner 4 (CAMAG, Швейцария) при следующих параметрах: режим – отражательная абсорбция, длина волны – 490 нм, щель – 6,0×0,4 мм, скорость сканирования – 20 мм/с, разрешение – 100 мкм/шаг, математический фильтр – Savitsky – Golay 7. Количественное определение α -токоферола, кофер-

¹ОФС 1.2.1.0010.15. Потеря в массе при высушивании. Утв. Приказом Минздрава России от 31.10.2018 г. № 749. Введ. 01.12.2018 г.

мента Q и жирных кислот в исследуемых экстрактах осуществляли с помощью полученных калибровочных уравнений (табл. 1).

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Исследование состава каротиноидов проводили с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе LicArt 62 («Лабконцепт», Россия). Пробоподготовку и разделение пигментов осуществляли согласно источнику [12] с небольшими модификациями. Образец таллома лишайника растирали в жидком азоте, из полученного порошка отбирали навеску массой 0,1 г и переносили ее в пробирку типа Эппендорф, далее к ней добавляли 0,5 мл ацетона. Для интенсификации извлечения каротиноидов смесь в пробирках типа Эппендорф в течение 5 мин подвергали обработке ультразвуком при помощи ультразвуковой ванны «Сапфир» («Сапфир», Россия), далее в течение 5 мин центрифугировали при 6700 g. Супернатант отделяли, а к осадку добавляли 0,5 мл ацетона. Стадии экстрагирования повторяли до максимально полного извлечения пигментов (5–6 стадий). Полученные экстракты объединяли и высушивали на ротационном испарителе. Для высокоэффективной жидкостной хроматографии использовали следующие соединения: элюент А – ацетонитрил – метанол – вода (75:12:4), элюент В – метанол – этилацетат (68:32). Высушенные экстракты пигментов растворяли в 200 мкл элюента А, центрифугировали в течение 5 мин при 6700 g, 50 мкл супернатанта отбирали и хроматографировали на колонке с обращенной фазой Inertsil ODS-3 (3 мкм, 4,6×100 мм (GL Sciences, Япония)). Соединения хроматографировали при градиентном режиме со следующей последовательностью элюентов: 0 мин А – 100%; 0–15 мин А – 0% и В – 100%; 15–40 мин В – 100%. Скорость потока элюента составляла 0,5 мл/мин. Детектирование каротиноидов проводили с помощью диодно-матричного детектора (DAD-62 («Лабконцепт», Россия) при 440 нм. Управление работой хроматографа, прием и обработку полученных данных проводили с помощью специализированной компьютерной программы LicArt WSV.

Идентификацию каротиноидов в экстрактах талломов лишайника осуществляли по электронным спектрам в области 300–700 нм, а также путем сопоставления с временами выхода стандартов каротиноидов – β-каротина, лютеина и кантаксантина (Sigma-Aldrich, США, степень чистоты не менее 95%), хроматографируемых при аналогичных условиях.

Статистический анализ. Опыты проводили в 3–5 биологических и 3–10 аналитических повторностях. Полученные данные были представлены в виде средних арифметических значений со стандартными ошибками.

Все экспериментальные данные по количественному определению липидов и каротиноидов имеют нормальное распределение признака. Для сравнения их средних арифметических значений использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с оценкой попарных различий с помощью критериев Тьюки и Бонферрони.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В естественной среде обитания лишайники часто испытывают перепады температур, характерные для каждой определенной местности. Большинство лишайников в сухом виде способны переносить изменения температур в широком диапазоне [1]. В отличие от сухих талломов гидратированные лишайники обладают гораздо большей чувствительностью к воздействию неблагоприятных температур [2]. Исследования реакций фотосинтетического аппарата лишайника *Parmelina tiliacea* на действие высоких температур в сухом и влажном состоянии показали, что выдерживание сухого лишайника (при 50 °C) в течение 24 ч не вызывало заметной стрессовой реакции в отличие от стрессового ответа влажных талломов, термическая обработка которых (45 °C) приводила к инаktivации большинства реакционных центров фотосистемы II [13, 14]. Как отмечалось выше, пельтигеровые лишайники характеризуются высокими темпами роста и активным редокс-метаболизмом [3]. Кроме того, они произрастают в средних широтах и, возможно, не обладают повышенной температурной устойчивостью, что позволяет ожидать от них более яркой стрессовой реакции на температурное воздействие.

Настоящая работа была посвящена исследованию действия повышенной температуры (40 °C) на гидратированные талломы лишайника *P. canina*, в частности на изменение липидного профиля лишайника в условиях температурного стресса. Количественный анализ липидных веществ в лишайнике показал, что в опытных образцах, подвергнутых высокотемпературному воздействию в течение 3 ч, их содержание уменьшилось с 3,8±0,4 до 2,6±0,2% от сухой массы.

Известно, что липидный профиль лишайников включает в себя широкий спектр соединений, представленных мембранными липидами (фосфолипиды, гликолипиды, стерин), запасными липидами (ацилглицериды), а также различными вторичными метаболитами, например каротиноидами [15]. Ранее нами было установлено, что липидные экстракты лишайника *P. canina* содержат различные нейтральные и полярные липиды. При воздействии на лишайник повышенной температуры качественный состав липидов не изме-

Таблица 1. Калибровочные уравнения для количественного определения индивидуальных веществ

Table 1. Calibration equations for quantification of individual substances

Вещества-стандарты	Количество, мкг	Полученное калибровочное уравнение (по площади пиков)	Коэффициент корреляции
α-Токоферол	2; 4; 6	$y = 2174 + 882x$	0,99
Олеиновая кислота	2; 4; 6	$y = 2583 + 741x$	0,98
Кофермент Q	1; 2; 3	$y = 1677 + 1865x$	0,99

нялся, но заметно изменялось содержание отдельных липидов – тритерпенов, жирных кислот и углеводов [16]. Полученные данные свидетельствуют о существенном влиянии повышенной температуры на липидный профиль лишайника *P. canina* и вовлечении липидных соединений в стрессовый ответ лишайника на температурное воздействие.

Важной составляющей ответа живого организма на воздействие абиотических стрессовых факторов является увеличение образования АФК [4] и развитие окислительного стресса, который запускает каскад биохимических реакций, направленных на формирование адаптации к стрессовому фактору. В связи с этим нами была проведена оценка редокс-статуса талломов лишайника после воздействия на него повышенной температуры. Проведенные эксперименты показали, что в условиях высокотемпературного нагрева уже через 30 мин уровень перекиси водорода в клетках заметно увеличивался (рис. 1), однако в последующие 30 мин наблюдалось возвращение содержания перекиси водорода к контрольному уровню. Дальнейшее воздействие повышенной температуры не вызвало сильного роста уровня перекиси водорода в клетках лишайника, после 3 ч обработки он был выше контроля всего в 1,2 раза.

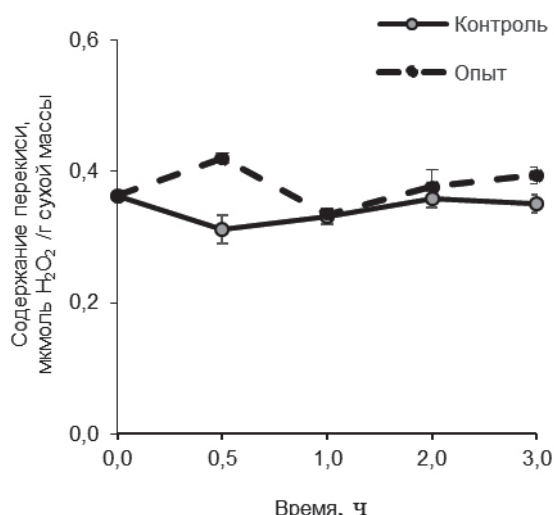


Рис. 1. Динамика изменения содержания перекиси водорода в талломах лишайника *Peltigera canina* при действии повышенной температуры (3 ч, 40 °C). На рисунке представлены средние арифметические значения и стандартные ошибки при $n = 5$. Достоверность различий определяли с помощью двухвыборочного критерия Колмогорова – Смирнова при $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$ (**); $p < 0,001$ (***)

Fig. 1. Dynamics of changes in the H_2O_2 content in the thalli of the lichen *Peltigera canina* under the influence of elevated temperature (3 h, 40 °C). The figure shows arithmetic means and standard errors for $n = 5$. Significance of differences was determined using the two-sample Kolmogorov – Smirnov Test at $p < 0.05$ (*); $p < 0.01$ (**); $p < 0.001$ (***)

Измерение активности редокс-ферментов показало увеличение фенол-ксидазной активности (рис. 2, а) и снижение активности каталазы (рис. 2, б) при действии повышенной температуры (40 °C). Аналогичные законо-

мерности часто наблюдаются у лишайников в условиях окислительного стресса. По данным С. Кузель [17], активность каталазы лишайников (*Cladonia rangiferina*, *Hypogymnia physodes*, *Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*) резко снижается в условиях окисления, вызванного инкубацией талломов в атмосфере с повышенным содержанием диоксида серы.

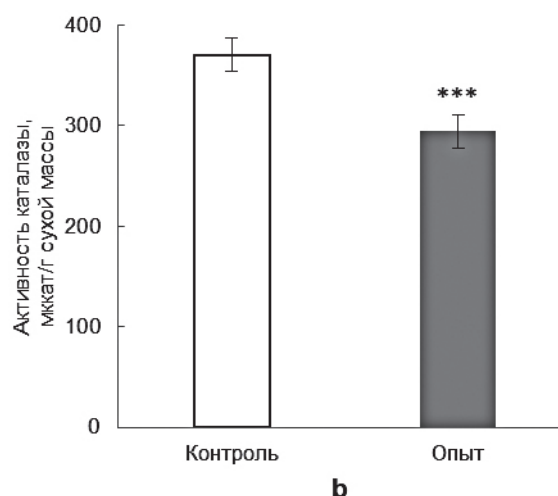
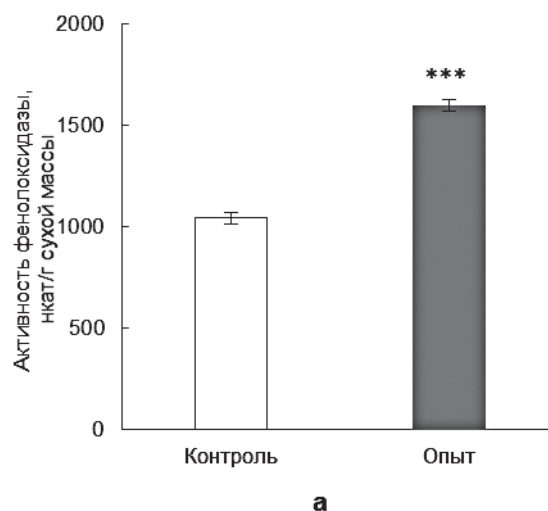


Рис. 2. Изменение активности фенолоксидазы (а) и каталазы (б) в талломах *Peltigera canina* при действии повышенной температуры (3 ч, 40 °C). На рисунке представлены средние арифметические значения и стандартные ошибки при $n = 5$. Достоверность различий определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа при $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$ (**); $p < 0,001$ (***)

Fig. 2. Changes in phenol oxidase (a) and catalase (b) activity in *Peltigera canina* thalli under the action of elevated temperature (3 h, 40 °C). The figures show arithmetic means and standard errors for $n = 5$. Significance of differences was determined using one-way analysis of variance (ANOVA) at $p < 0.05$ (*); $p < 0.01$ (**); $p < 0.001$ (***)

Обработка повышенной температурой приводила к снижению образования гидроксильного радикала в экстраклеточном растворе (рис. 3) и усилению перекисного окисления липидов в талломах лишайника (рис. 4).

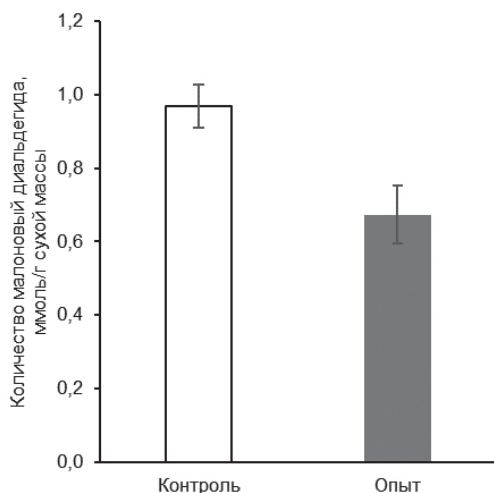


Рис. 3. Изменение содержания гидроксильного радикала в талломах *Peltigera canina* при действии повышенной температуры (3 ч, 40 °C). На рисунке представлены средние арифметические значения и стандартные ошибки при $n = 5$. Достоверность различий определяли с помощью двухвыборочного критерия Колмогорова – Смирнова при $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$ (**); $p < 0,001$ (***)

Fig. 3. Changes in the content of hydroxyl radical in *Peltigera canina* thalli under the action of elevated temperature (3 h, 40 °C). The figure shows the arithmetic means and standard errors for $n = 5$. Significance of differences was determined using the two-sample Kolmogorov – Smirnov Test at $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$ (**); $p < 0,001$ (***)

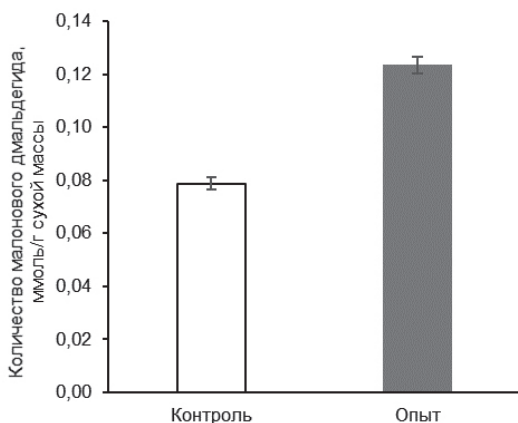


Рис. 4. Изменение уровня перекисного окисления липидов лишайника в талломах *Peltigera canina* при действии повышенной температуры (3 ч, 40 °C). На рисунке представлены средние арифметические значения и стандартные ошибки при $n = 5$. Достоверность различий определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа при $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$ (**); $p < 0,001$ (***)

Fig. 4. Changes in the level of lipid peroxidation in lichen thalli of *Peltigera canina* under the influence of elevated temperature (3 h, 40 °C). The figure shows the arithmetic means and standard errors for $n = 5$. Significance of differences was determined using one-way analysis of variance (ANOVA) at $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$ (**); $p < 0,001$ (***)

В работе К.Э. Мойо с соавторами [18] показано, что, несмотря на то, что род *Peltigera* характеризуется высокой активностью редокс-ферментов, этот широко распространенный род лишайников обладает слабой способностью превращать добавленный хинон в гидрохиноны. Это привело авторов [18] к предположению о том, что скорость образования гидроксильного радикала определяется активностью хинонредуктазы. Вероятно, снижение содержания гидроксильного радикала при высокотемпературной обработке лишайника *P. canina* обусловлено ингибированием активности экстраклеточных хинонредуктаз, ответственных за производство гидроксильного радикала.

Все наблюдаемые изменения редокс-параметров свидетельствуют о развитии окислительного стресса в лишайнике *P. canina* в ответ на высокотемпературную обработку талломов. В связи с этим возникло предположение о возможном включении антиоксидантных систем лишайника в ответ на действие повышенной температуры. Е.Р. Котловой² был проведен детальный анализ антиоксидантных систем лишайников, в том числе и лишайника *P. canina*. Несмотря на давность, данное исследование не утратило своей актуальности и ценности. Автором отмечено, что у живых организмов имеются две принципиальные стратегии (действующие независимо или в комбинации), которые обеспечивают защиту от окислительного повреждения [19]. Первая включает изменение молекулярного состава мембран, что влечет за собой изменение проницаемости и, соответственно, доступности клеточных компонентов для токсичных продуктов. Вторая основана на активации систем, обеспечивающих химическую детоксикацию АФК и свободных органических радикалов. Существует неферментативная система антиоксидантной защиты, в которой участвуют низкомолекулярные соединения – «перехватчики» АФК и органических радикалов, а также вещества, которые регенерируют антиоксиданты (синергисты), и ферментативная система антиокислительной защиты, к которой относятся такие ферменты, как супероксиддисмутазы, пероксидазы, каталаза [19–22].

В связи с вышесказанным, в лишайнике *P. canina* нами были исследованы стресс-индуцированные изменения общего липидного профиля с фокусировкой на вещества, обладающие выраженным антиоксидантным действием. К таким соединениям относятся α -токоферол, кофермент Q и каротиноиды.

Было показано, что при действии повышенной температуры происходит резкое падение уровня жирных кислот (табл. 2), что может быть вызвано их окислением, и это согласуется с нашими данными о повышении уровня перекисного окисления липидов в лишайнике на фоне действия высокой температуры (см. рис. 4).

Основная функция токоферолов связана с торможением перекисного окисления липидов в липидной фазе [23]. Они вызывают обрыв цепей свободнорадикального окисления путем взаимодействия с пероксильными и алкоксильными радикалами [24]. Кроме участия в реакциях обрыва цепей окисления молекулы токоферола, аналогично стеринам, снижают проницаемость мембран, а также связывают свободные жирные кислоты, избыток которых дестабилизирует мембранную структуру [25]. Из

²Котлова Е.Р. Антиокислительные системы лишайников: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.12, 03.00.24. СПб., 2000. 199 с.

Таблица 2. Количество индивидуальных липидов в талломах лишайника *Peltigera canina* при действии повышенной температуры (3 ч, 40 °C) ($n = 3$)

Table 2. Individual lipids amount in the thalli of the lichen *Peltigera canina* under the action of elevated temperature (3 h, 40 °C) ($n = 3$)

Индивидуальные липиды	Количество, мкг/г сухой массы	
	Контроль	Опыт
Жирные кислоты	1296±74	224±30***
α-Токоферол	28±3	620±41***
Кофермент Q	52±7	Н.д.

Примечание. Достоверность различий определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа при $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$ (**); $p < 0,001$ (***). Н.д. – не детектируется.

всех известных форм токоферолов в лишайниках был обнаружен только α-токоферол [26, 27]. В наших экспериментах при действии повышенной температуры в лишайнике наблюдалось значительное увеличение содержания α-токоферола (см. табл. 2), которое сопровождалось заметным снижением уровня кофермента Q. Кофермент Q является жирорастворимым антиоксидантом, способным постоянно регенерировать из окисленной формы с помощью ферментных систем. Непосредственное (прямое) антиоксидантное действие кофермента Q заключается в улавливании свободных радикалов. Опосредованное антиоксидантное действие кофермента Q состоит в предупреждении образования феноксил-радикалов α-токоферола и его возможного прооксидантного действия. Как известно, высокая антиокислительная активность α-токоферола проявляется только в условиях непрерывного функционирования редокс-цикла².

Еще одним важным участником неферментативной антиоксидантной системы являются каротиноиды, которые, как известно, способны утилизировать свободные радикалы [28]. Каротиноиды принимают участие в защите клеточных структур от фотодеструкции, а также могут взаимодействовать с органическими радикалами жирных кислот, действуя как «ловушки» радикалов² [21, 29]. С одной стороны, есть мнение, что каротиноиды и токоферолы проявляют синергизм в защите липидов от повреждающего действия свободных радикалов [30, 31].

С другой стороны, показано, что токоферол защищает каротиноиды от окисления, взаимодействуя с их радикалами [32]. У цианолишайников (*Collema*, *Leptogium*, *Peltigera*, *Pseudocyphellaria*, *Stictia*) преобладают типичные для цианобактерий кето-каротиноиды – эхиненон и кантаксантин. Нужно отметить, что антиокислительная активность кето-каротиноидов значительно выше, чем гидроксисоединений. В ряду кето-каротиноидов наибольшей антиокислительной активностью обладают соединения, имеющие в своем составе максимальное количество кето-групп. Например, было показано, что кантаксантин и астаксантин, имеющие две кето-группы, более эффективны в детоксикации радикалов, чем эхиненон, химическая структура которого содержит только одну кето-группу [33, 34]. В ходе наших экспериментов было обнаружено, что при действии повышенной температуры наблюдается увеличение суммарного количества каротиноидов в талломах лишайника почти в 2 раза (табл. 3).

В составе обнаруженных каротиноидов удалось идентифицировать β-каротин, лютеин и кето-каротиноид кантаксантин. Надо отметить, что β-каротин является основным преобладающим каротиноидом в лишайнике *P. canina*. Как видно из табл. 3, в условиях температурного стресса в сумме каротиноидов увеличивается доля β-каротина, тогда как относительное содержание лютеина и кантаксантина уменьшается.

Таблица 3. Изменение относительного содержания каротиноидов в талломах лишайника *Peltigera canina* при действии повышенной температуры (3 ч, 40 °C) ($n = 3$)

Table 3. Changes in the relative content of carotenoids in the thalli of the lichen *Peltigera canina* under the influence of elevated temperature (3 h, 40 °C) ($n = 3$)

Каротиноиды	Площадь пика, мАУ×мин	Относительное содержание, %	Площадь пика, мАУ×мин	Относительное содержание, %
	Контроль		Опыт	
β-Каротин	2673±26	54,8±0,1	6345±368***	60,7±0,2***
Лютеин	645±12	13,2±0,2	1116±11***	10,8±0,6*
Кантаксантин	274±7	5,6±0,1	319±17	3,1±0,1***
Н.и.	316±2	6,5±0,1	656±64***	6,3±0,3
Н.и.	378±12	7,8±0,3	652±38**	6,2±0,1**
Н.и.	389±5	8,0±0,1	872±75**	8,3±0,3
Н.и.	199±4	4,1±0,1	485±33***	4,6±0,1**
Всего	4874±39	100,0	10445±593***	100,0

Примечание. Достоверность различий определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа при $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$ (**); $p < 0,001$ (***). Н.и. – неидентифицированный каротиноид.

Полученные данные отличаются от данных, описанных в вышеупомянутой работе Е.Р. Котловой², где в условиях окислительного стресса, вызываемого действием окислителя Fe^{2+} -аскорбата, наблюдалось резкое уменьшение β -каротина и увеличение содержания кантаксантина. Однако и в нашей работе также была обнаружена обратная корреляция между содержанием кантаксантина и β -каротина, что, возможно, обусловлено различными функциональными особенностями этих каротиноидов при осуществлении антиоксидантной защиты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что при действии повышенной температуры на талломы лишайника *P. canina* наблюдается изменение редокс-статуса клеток талломов и развитие окислительного стресса, который приводит к активизации неферментативной антиоксидантной системы лишайника, в частности происходит увеличение содержания низкомолекулярных антиоксидантов липофильной природы, что является липид-опосредованным стрессовым ответом лишайника на действие повышенной температуры.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Beckett R.P., Kranner I., Minibayeva F.V. Stress physiology and the symbiosis // Lichen biology / ed. T.H. Nash III. Cambridge: Cambridge University Press, 2008. P. 134–151.
2. Chen K., Wei J.-C. Heat tolerance of the mycobionts and phycobionts from three desert lichens // Mycosystema. 2015. Vol. 34, no. 5. P. 1007–1014. DOI: 10.13346/j.mycosystema.140074.
3. Beckett R.P., Minibayeva F.V., Vylegzhanina N.N., Tolpysheva T. High rates of extracellular superoxide production by lichens in the suborder Peltigerineae correlate with indices of high metabolic activity // Plant, Cell and Environment. 2003. Vol. 26, no. 11. P. 1827–1837. DOI: 10.1046/j.1365-3040.2003.01099.x.
4. Bolwell G.P., Bindschedler L.V., Blee K.A., Butt V.S., Davies D.R., Gardner S.L., et al. The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a three-component system // Journal of Experimental Botany. 2002. Vol. 53, no. 372. P. 1367–1376. DOI: 10.1093/jexbot/53.372.1367.
5. Веселова С.В., Нужная Т.В., Бурханова Г.Ф., Румянцев С.Д., Максимов И.В. Влияние этилена на содержание активных форм цитокининов в листьях пшеницы, инфицированных различными по вирулентности штаммами гриба *Stagonospora nodorum* Berk. // Экобиотех. 2020. Т. 3. N 1. С. 91–101. DOI: 10.31163/2618-964X-2020-3-1-91-101. EDN: NFQZQP.
6. Bindschedler L.V., Minibaeva F., Gardner S.L., Gerrish C., Davies D.R., Bolwell G.P. Early signalling events in the apoplastic oxidative burst in suspension cultured French bean cells involve cAMP and Ca^{2+} // New Phytologist. 2001. Vol. 151, no. 1. P. 185–194. DOI: 10.1046/j.1469-8137.2001.00170.x.
7. Gomez-Toribio V., Garcia-Martin A.B., Martinez M.J., Martinez A.T., Guillen F. Enhancing the production of hydroxyl radicals by *Pleurotus eryngii* via quinone redox cycling for pollutant removal // Applied and Environmental Microbiology. 2009. Vol. 75, no. 12. P. 3954–3962. DOI: 10.1128/AEM.02138-08.
8. Kumar G.N.M., Knowles N.R. Changes in lipid peroxidation and lipolytic and free radical scavenging enzyme activities during aging and sprouting of potato (*Solanum tuberosum*) seed-tubers // Plant Physiology. 1993. Vol. 102, no. 1. P. 115–124. DOI: 10.1104/pp.102.1.115.
9. Часов А.В., Минибаева Ф.В. Методические подходы к исследованию редокс-активности апопласта. 2. Регуляция активности пероксидаз // Физиология растений. 2014. Т. 61. N 5. С. 668–675. DOI: 10.7868/S0015330314050042. EDN: SHLPKN.
10. Hildebrandt A.G., Roots I. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH)-dependent formation and breakdown of hydrogen peroxide during mixed function oxidation reaction in liver microsomes // Archives of Biochemistry and Biophysics. 1975. Vol. 171, no. 2. P. 385–397. DOI: 10.1016/0003-9861(75)90047-8.
11. Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification // Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. 1959. Vol. 37, no. 8. P. 911–917. DOI: 10.1139/o59-099.
12. Дымова О.В., Кузиванова О.А. Оптимизация способа экстракции фотосинтетических пигментов и их содержание в талломах лишайников // Химия растительного сырья. 2018. N 2. С. 137–144. DOI: 10.14258/jcprm.2018023013. EDN: XQIGXB.
13. Oukarroum A., Schanser G., Strasser R.J. Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using Chl a fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance // Physiologia Plantarum. 2009. Vol. 137, no. 2. P. 188–199. DOI: 10.1111/j.1399-3054.2009.01273.x.
14. Lange O.L., Green T.G.A., Heber U. Hydration-dependent photosynthetic production of lichens: what do laboratory studies tell us about field performance? // Journal of Experimental Botany. 2001. Vol. 52, no. 363. P. 2033–2042. DOI: 10.1093/jexbot/52.363.2033.
15. Дембицкий В.М., Толстиков Г.А. Органические метаболиты лишайников: монография. Новосибирск: Гео, 2005. 134 с.
16. Валитова Ю.Н., Хабибрахманова В.Р., Уваева В.А., Рахматуллина Д.Ф., Галеева Е.И., Трифонова Т.В. [и др.]. Изменение липидного состава лишайника *Peltigera canina* при действии неблагоприятных температур // Устойчивость растений и микроорганизмов к неблагоприятным факторам среды: труды VI Всерос. науч. конф. с междунар. уч. (пос. Большое Голоустное, 3–7 июля 2023 г.). Иркутск, 2023. С. 25. EDN: ALUYDK.
17. Kuziel S. Influence of sulphur dioxide on chlorophyll content and catalase activity in some chosen lichen species // Acta Societatis Botanicorum Poloniae. 1974. Vol. 43, no. 4. P. 453–457. DOI: 10.5586/asbp.1974.041.
18. Moyo C.E., Beckett R.P., Trifonova T.V., Minibayeva F.V. Extracellular redox cycling and hydroxyl radical production occurs widely in lichenized Ascomycetes // Fungal Biology. 2017. Vol. 121, no. 6-7. P. 582–588. DOI: 10.1016/j.funbio.2017.03.005.
19. Gunning J.R., Taylor G.J. Mechanisms of metal tolerance in plants: physiological adaptations for exclusion of metal ions from the cytoplasm // Stress responses in plants: adaptation and acclimation mechanisms / eds R.G. Alcher, J.R. Gunning. New York: Wiley-Liss, 1990. P. 329–356.

20. Мерзляк М.Н. Физиология растений. Т. 6. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки. М.: Изд-во ВИНТИ АН СССР, 1989. 166 с.
21. Yu B.P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews*. 1994. Vol. 74, no. 1. P. 139–162. DOI: 10.1152/physrev.1994.74.1.139.
22. Hell A.F., Gasulla F., Gonzalez-Hourcade M., del Campo E.M., Centeno D.C., Casano L.M. Tolerance to cyclic desiccation in lichen microalgae is related to habitat preference and involves specific priming of the antioxidant system // *Plant and Cell Physiology*. 2019. Vol. 60, no. 8. P. 1880–1891. DOI: 10.1093/pcp/pcz103.
23. Mesa T., Munné-Bosch S. α -Tocopherol in chloroplasts: nothing more than an antioxidant? // *Current Opinion in Plant Biology*. 2023. Vol. 74. P. 102400. DOI: 10.1016/j.pbi.2023.102400.
24. Fukuzawa K., Fujii T. Peroxide dependent and independent lipid peroxidation: site-specific mechanisms of initiation by chelated iron and inhibition by α -tocopherol // *Lipids*. 1992. Vol. 27, no. 3. P. 227–233. DOI: 10.1007/BF02536183.
25. Wang X., Quinn P.J. Vitamin E and its function in membranes // *Progress in Lipid Research*. 1999. Vol. 38, no. 4. P. 309–336. DOI: 10.1016/S0163-7827(99)00008-9.
26. DaSilva E.J., Englund B. Occurrence of tocopherol and ergosterol in Swedish lichens // *Lichenologist*. 1974. Vol. 6, no. 1. P. 96–99. DOI: 10.1017/S0024282974000053.
27. Dasilva E.J., Jensen A. Choline, ergosterol and tocopherol content of some Norwegian lichens // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1971. Vol. 22, no. 6. P. 308–311. DOI: 10.1002/jsfa.2740220611.
28. Britton G. Carotenoid research: history and new perspectives for chemistry in biological systems // *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2020. Vol. 1865, no. 11. P. 158699. DOI: 10.1016/j.bbalip.2020.158699.
29. Palozza P., Krinsky N.I. Antioxidant effect of carotenoids *in vivo* and *in vitro*: an overview // *Methods in enzymology*. Vol. 213. Carotenoids (Part A. Chemistry, separation, quantitation, and antioxidation) / ed. L. Packer. San Diego: Academic Press, 1992. P. 403–420.
30. Kennedy T.A., Leibler D.C. Peroxyl radical scavenging by β -carotene in lipid bilayers: effect of oxygen partial pressure // *Journal of Biological Chemistry*. 1992. Vol. 267, no. 7. P. 4658–4663.
31. Böhm F., Edge R., McGarvey D.J., Truscott T.G. β -Carotene with vitamins E and C offers synergistic cell protection against NO_x // *FEBS Letters*. 1998. Vol. 436, no. 3. P. 387–389. DOI: 10.1016/S0014-5793(98)01173-9.
32. Гомбоева С.Б., Гесслер Н.Н., Шумаев К.Б., Хомич Т.И., Мойсеев А.Г., Быховский В.Я. Некоторые природные и синтетические антиоксиданты как стабилизаторы превращения β -каротина в витамин А // *Биохимия*. 1998. Т. 63. N 2. С. 224–229.
33. Muzzopappa F., Kirilovsky D. Changing color for photoprotection: the orange carotenoid protein // *Trends in Plant Science*. 2020. Vol. 25, no 1. P. 92–104 DOI: 10.1016/j.tplants.2019.09.013.
34. Kobayashi M., Kakizono T., Nishio N., Nagai S., Kurimura Y., Tsuji Y. Antioxidant role of astaxanthin in the green alga *Haematococcus pluvialis* // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 1997. Vol. 48. P. 351–356. DOI: 10.1007/s002530051061.
- REFERENCES**
1. Beckett R.P., Kranner I., Minibayeva F.V. Stress physiology and the symbiosis. In: Nash III T.H. (ed.). *Lichen biology*. Cambridge: Cambridge University Press; 2008, p. 134–151.
2. Chen K., Wei J.-C. Heat tolerance of the mycobionts and phycobionts from three desert lichens. *Mycosystema*. 2015;34(5):1007–1014. DOI: 10.13346/j.mycosystema.140074.
3. Beckett R.P., Minibayeva F.V., Vylegzhanina N.N., Tolpysheva T. High rates of extracellular superoxide production by lichens in the suborder Peltigerineae correlate with indices of high metabolic activity. *Plant, Cell and Environment*. 2003;26(11):1827–1837. DOI: 10.1046/j.1365-3040.2003.01099.x.
4. Bolwell G.P., Bindschedler L.V., Blee K.A., Butt V.S., Davies D.R., Gardner S.L., et al. The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a three-component system. *Journal of Experimental Botany*. 2002;53(372):1367–1376. DOI: 10.1093/jexbot/53.372.1367.
5. Veselova S.V., Nuzhnaya T.V., Burkhanova G.F., Rumyantsev S.D., Maksimov I.V. Effect of ethylene on the content of active forms of cytokinins in wheat leaves infected with the fungus *Stagonospora nodorum* Berk. strains with different virulence. *Ekobiotekh = Ecobiotech*. 2020;3(1):91–101. (In Russian). DOI: 10.31163/2618-964X-2020-3-1-91-101. EDN: NFQZQP.
6. Bindschedler L.V., Minibaeva F., Gardner S.L., Gerrish C., Davies D.R., Bolwell G.P. Early signalling events in the apoplastic oxidative burst in suspension cultured French bean cells involve cAMP and Ca^{2+} . *New Phytologist*. 2001;151(1):185–194. DOI: 10.1046/j.1469-8137.2001.00170.x.
7. Gomez-Toribio V., Garcia-Martin A.B., Martinez M.J., Martinez A.T., Guillen F. Enhancing the production of hydroxyl radicals by *Pleurotus eryngii* via quinone redox cycling for pollutant removal. *Applied and Environmental Microbiology*. 2009;75(12):3954–3962. DOI: 10.1128/AEM.02138-08.
8. Kumar G.N.M., Knowles N.R. Changes in lipid peroxidation and lipolytic and free radical scavenging enzyme activities during aging and sprouting of potato (*Solanum tuberosum*) seed-tubers. *Plant Physiology*. 1993;102(1):115–124. DOI: 10.1104/pp.102.1.115.
9. Chasov A.V., Minibayeva F.V. Methodological approaches for studying apoplastic redox activity: 2. Regulation of peroxidase activity. *Fiziologiya rastenii*. 2014;61(5):668–675. (In Russian). DOI: 10.7868/S0015330314050042. EDN: SHLPKN.
10. Hildebrandt A.G., Roots I. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH)-dependent formation and breakdown of hydrogen peroxide during mixed function oxidation reaction in liver microsomes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1975;171(2):385–397. DOI: 10.1016/0003-9861(75)90047-8.
11. Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 1959;37(8):911–917. DOI: 10.1139/o59-099.
12. Dymova O.V., Kuzivanova O.A. The optimization of extraction routine of photosynthetic pigments and

its content in lichens thalli. *Khimija rastitel'nogo syr'ja* = *Chemistry of Plant Raw Material*. 2018;2:137-144. (In Russian). DOI: 10.14258/jcpm.2018023013. EDN: XQIGXB.

13. Oukarroum A., Schansker G., Strasser R.J. Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using Chl a fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance. *Physiologia Plantarum*. 2009;137(2):188-199. DOI: 10.1111/j.1399-3054.2009.01273.x.

14. Lange O.L., Green T.G.A., Heber U. Hydration-dependent photosynthetic production of lichens: what do laboratory studies tell us about field performance? *Journal of Experimental Botany*. 2001;52(363):2033-2042. DOI: 10.1093/jexbot/52.363.2033.

15. Dembitskii V.M. Tolstikov G.A. *Organic metabolites of lichens*. Novosibirsk: Geo; 2005, 134 p. (In Russian).

16. Valitova Yu.N., Khabibrakhmanova V.R., Uvaeva V.L., Rakhmatullina D.F., Ga-leeva E.I., Trifonova T.V., et al. Changes in the lipid composition of the lichen *Peltigera canina* under the influence of unfavorable temperatures. In: *Ustoichivost' rastenii i mikroorganizmov k neblagopriyatnym faktoram sredy: trudy VI Vseros. nauch. konf. s mezhdunar. uch.* = *Resistance of plants and microorganisms to unfavorable environmental factors: Proceedings of the 6th All-Russian Scientific Conference with International Participation*. 3–7 July 2023, Bolshoe Goloustnoe. Irkutsk; 2023, p. 25. (In Russian). EDN: ALUYDK.

17. Kuziel S. Influence of sulphur dioxide on chlorophyll content and catalase activity in some chosen lichen species. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 1974;43(4):453-457. DOI: 10.5586/asbp.1974.041.

18. Moyo C.E., Beckett R.P., Trifonova T.V., Minibayeva F.V. Extracellular redox cycling and hydroxyl radical production occurs widely in lichenized Ascomycetes. *Fungal Biology*. 2017;121(6-7):582-588. DOI: 10.1016/j.funbio.2017.03.005.

19. Gunning J.R., Taylor G.J. Mechanisms of metal tolerance in plants: physiological adaptations for exclusion of metal ions from the cytoplasm. In: Alcher R.G., Gunning J.R. (eds). *Stress responses in plants: adaptation and acclimation mechanisms*. New York: Wiley-Liss; 1990, p. 329-356.

20. Merzlyak M.N. *Plant physiology. Vol. 6. Activated oxygen and oxidative processes in plant cell membranes*. Moscow: All-Union Institute for Scientific and Technical Information of the USSR Academy of Sciences; 1989, 166 p. (In Russian).

21. Yu B.P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews*. 1994;74(1):139-162. DOI: 10.1152/physrev.1994.74.1.139.

22. Hell A.F., Gasulla F., Gonzalez-Hourcade M., del Campo E.M., Centeno D.C., Casano L.M. Tolerance to cyclic desiccation in lichen microalgae is related to habitat

preference and involves specific priming of the antioxidant system. *Plant and Cell Physiology*. 2019;60(8):1880-1891. DOI: 10.1093/pcp/pcz103.

23. Mesa T., Munné-Bosch S. α -Tocopherol in chloroplasts: nothing more than an antioxidant? *Current Opinion in Plant Biology*. 2023;74:102400. DOI: 10.1016/j.pbi.2023.102400.

24. Fukuzawa K., Fujii T. Peroxide dependent and independent lipid peroxidation: site-specific mechanisms of initiation by chelated iron and inhibition by α -tocopherol. *Lipids*. 1992;27(3):227-233. DOI: 10.1007/BF02536183.

25. Wang X., Quinn P.J. Vitamin E and its function in membranes. *Progress in Lipid Research*. 1999;38(4):309-336. DOI: 10.1016/S0163-7827(99)00008-9.

26. DaSilva E.J., Englund B. Occurrence of tocopherol and ergosterol in Swedish lichens. *Lichenologist*. 1974;6(1):96-99. DOI: 10.1017/S0024282974000053.

27. Dasilva E.J., Jensen A. Choline, ergosterol and tocopherol content of some Norwegian lichens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1971;22(6):308-311. DOI: 10.1002/jsfa.2740220611.

28. Britton G. Carotenoid research: history and new perspectives for chemistry in biological systems. *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2020;1865(11):158699. DOI: 10.1016/j.bbalip.2020.158699.

29. Palozza P., Krinsky N.I. Antioxidant effect of carotenoids *in vivo* and *in vitro*: an overview. In: Packer L. (ed.). *Methods in enzymology. Vol. 213. Carotenoids (Part A. Chemistry, separation, quantitation, and antioxidation)*. San Diego: Academic Press; 1992. p. 403-420.

30. Kennedy T.A., Leibler D.C. Peroxyl radical scavenging by β -carotene in lipid bilayers: effect of oxygen partial pressure. *Journal of Biological Chemistry*. 1992;267(7):4658-4663.

31. Böhm F., Edge R., McGarvey D.J., Truscott T.G. β -Carotene with vitamins E and C offers synergistic cell protection against NO_x. *FEBS Letters*. 1998;436(3):387-389. DOI: 10.1016/S0014-5793(98)01173-9.

32. Gomboeva S.B., Gessler N.N., Shumaev K.B., Khomich T.I., Moiseynok A.G., By-khovskiy V.Ya. Some natural and synthetic antioxidants as stabilizers of β -carotene conversion to vitamin A. *Biokhimiya*. 1998;63(2):224-229. (In Russian).

33. Muzzopappa F., Kirilovsky D. Changing color for photoprotection: the orange carotenoid protein. *Trends in Plant Science*. 2020;25(1):92-104 DOI: 10.1016/j.tplants.2019.09.013.

34. Kobayashi M., Kakizono T., Nishio N., Nagai S., Kurimura Y., Tsuji Y. Antioxidant role of astaxanthin in the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 1997;48:351-356. DOI: 10.1007/s002530051061.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Валитова Юлия Наилевна,

к.б.н., старший научный сотрудник,
Казанский институт биохимии и биофизики –
обособленное структурное подразделение
Федерального исследовательского центра
«Казанский научный центр Российской
академии наук»,
420111, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31,
Российская Федерация,
✉ yulavalitova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3486-9989>

Хабибрахманова Венера Равиловна,

к.х.н.,
старший научный сотрудник,
Казанский институт биохимии и биофизики –
обособленное структурное подразделение
Федерального исследовательского центра
«Казанский научный центр Российской
академии наук»,
420111, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31,
Российская Федерация,
доцент,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, 68,
Российская Федерация,
venerakhabirakhmanova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-0969-7591>

Гурьянов Олег Петрович,

к.б.н., старший научный сотрудник,
Казанский институт биохимии и биофизики –
обособленное структурное подразделение
Федерального исследовательского центра
«Казанский научный центр Российской
академии наук»,
420111, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31,
Российская Федерация,
gurjanov58@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0002-9946-9150>

Уваева Вероника Леонидовна,

лаборант-исследователь,
Казанский институт биохимии и биофизики –
обособленное структурное подразделение
Федерального исследовательского центра
«Казанский научный центр Российской
академии наук»,
420111, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31,
Российская Федерация,
vernicapux99@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0007-6303-4805>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Juliya N. Valitova,

Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics,
Kazan Science Centre RAS,
2/31, Lobachevsky St., Kazan, 420111,
Russian Federation,
✉ yulavalitova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3486-9989>

Venera R. Khabibrakhmanova,

Cand. Sci. (Chemistry),
Senior Researcher,
Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics,
Kazan Science Centre RAS,
2/31, Lobachevsky St., Kazan, 420111,
Russian Federation;
Associate Professor,
Kazan National Research
Technological University,
68, Karl Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
venerakhabirakhmanova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-0969-7591>

Oleg P. Gurianov,

Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics,
Kazan Science Centre RAS,
2/31, Lobachevsky St., Kazan, 420111,
Russian Federation,
gurjanov58@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0002-9946-9150>

Veronika L. Uvaeva,

Laboratory Assistant Researcher,
Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics,
Kazan Science Centre RAS,
2/31, Lobachevsky St., Kazan, 420111,
Russian Federation,
vernicapux99@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0007-6303-4805>

Хайруллина Айсылу Фаридовна,

лаборант-исследователь,
Казанский институт биохимии и биофизики –
обособленное структурное подразделение
Федерального исследовательского центра
«Казанский научный центр Российской
академии наук»,
420111, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31,
Российская Федерация,
a16280110@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0009-5349-604X>

Рахматуллина Дания Фаритовна,

к.б.н., научный сотрудник,
Казанский институт биохимии и биофизики –
обособленное структурное подразделение
Федерального исследовательского центра
«Казанский научный центр Российской
академии наук»,
420111, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31,
Российская Федерация,
rdf137@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8237-2929>

Галеева Екатерина Инсафовна,

к.б.н., научный сотрудник,
Казанский институт биохимии и биофизики –
обособленное структурное подразделение
Федерального исследовательского центра
«Казанский научный центр Российской
академии наук»,
420111, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31,
Российская Федерация,
kgu@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5827-6339>

Трифоновна Татьяна Владимировна,

к.б.н., научный сотрудник,
Казанский институт биохимии и биофизики –
обособленное структурное подразделение
Федерального исследовательского центра
«Казанский научный центр Российской
академии наук»,
420111, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31,
Российская Федерация,
TrifonovaTatyana@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5845-1160>

Викторова Лариса Викторовна,

к.б.н., научный сотрудник,
Казанский институт биохимии и биофизики –
обособленное структурное подразделение
Федерального исследовательского центра
«Казанский научный центр Российской
академии наук»,
420111, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31,
Российская Федерация,
lar-viktorova@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0009-9265-4127>

Aisylu F. Khairullina,

Laboratory Assistant Researcher,
Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics,
Kazan Science Centre RAS,
2/31, Lobachevsky St., Kazan, 420111,
Russian Federation,
a16280110@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0009-5349-604X>

Daniya F. Rakhmatullina,

Cand. Sci. (Biology), Researcher,
Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics,
Kazan Science Centre RAS,
2/31, Lobachevsky St., Kazan, 420111,
Russian Federation,
rdf137@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8237-2929>

Ekaterina I. Galeeva,

Cand. Sci. (Biology), Researcher,
Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics,
Kazan Science Centre RAS,
2/31, Lobachevsky St., Kazan, 420111,
Russian Federation,
kgu@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5827-6339>

Tatyana V. Trifonova,

Cand. Sci. (Biology), Researcher,
Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics,
Kazan Science Centre RAS,
2/31, Lobachevsky St., Kazan, 420111,
Russian Federation,
TrifonovaTatyana@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5845-1160>

Larisa V. Viktorova,

Cand. Sci. (Biology), Researcher,
Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics,
Kazan Science Centre RAS,
2/31, Lobachevsky St., Kazan, 420111,
Russian Federation,
lar-viktorova@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0009-9265-4127>

Минибаяева Фарида Вилевна,

д.б.н., главный научный сотрудник,
Казанский институт биохимии и биофизики –
обособленное структурное подразделение
Федерального исследовательского центра
«Казанский научный центр Российской
академии наук»,
420111, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31,
Российская Федерация,
fminibayeva@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-0827-181X>

Farida V. Minibayeva,

Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher,
Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics,
Kazan Science Centre RAS,
2/31, Lobachevsky St., Kazan, 420111,
Russian Federation,
fminibayeva@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-0827-181X>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 02.08.2023.
Одобрена после рецензирования 24.08.2023.
Принята к публикации 31.10.2023.

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests
regarding the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved
by all the co-authors.*

Information about the article

The article was submitted 02.08.2023.
Approved after reviewing 24.08.2023.
Accepted for publication 31.10.2023.