

Роль светозащитных пигментов в стрессовой устойчивости лишайников

Ф. В. Минибаева*, Р. П. Бекетт***

* Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань

** Школа наук о жизни, Университет КваЗулу-Натал, г. Скоттсвилл, Южно-Африканская Республика
fminibayeva@gmail.com

Аннотация

Лишайники синтезируют большое количество вторичных метаболитов, в том числе «лишайниковых веществ». Наличие лишайниковых веществ позволяет лишайникам произрастать в разнообразных, зачастую стрессовых, экологических нишах. Среди вторичных метаболитов лишайников особый интерес вызывают светозащитные пигменты. Темно-коричневый пигмент меланин играет значительную роль в защите лишайников от УФ-Б стресса, однако ключевые драйверы меланизации остаются неизученными. Меланины – гидрофобные гетерогенные полимеры, образованные последовательными реакциями окисления фенольных/индольных предшественников и последующей полимеризации промежуточных фенолов и хинонов. Формирование меланинового слоя на поверхности таллома в ответ на УФ воздействие является одним из ключевых механизмов высокой устойчивости лишайников не только к световому стрессу, но и обезвоживанию. Нами показано, что связывание молекул воды с меланином зависит от активности специфических функциональных групп в структуре этого полимера, элементного состава, присутствия ассоциированных соединений, в том числе полисахаридов, и ультраструктуры меланиновых частиц. Антрахинон париедин является доминирующим кортикальным пигментом лишайников *Caloplaca* и *Xanthoria* из семейства *Teloschistaceae*. Наряду с обеспечением защиты таллома от высокой фотосинтетически активной радиации и УФ излучения, париедин обладает антиоксидантными свойствами, способствует защите лишайников от кадмиевой токсичности, обезвоживания. Париедин обеспечивает защиту талломов лишайников от абиотических стрессов благодаря поддержанию стабильности мембран, антиоксидантной защите, формированию структурного барьера и сохранению воды в кортексе талломов лишайника. Уникальные свойства пигментов лишайников делают эти естественные полимеры перспективными объектами для фундаментальных и прикладных исследований, в частности, в медицине, биотехнологии и «зеленой электронике».

Ключевые слова:

лишайники, световой стресс, светозащитные пигменты, устойчивость к обезвоживанию

The role of light-protective pigments in stress tolerance of lichens

F. V. Minibayeva*, R. P. Beckett***

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

** School of Life Sciences, University of KwaZulu-Natal, Scottsville, Republic of South Africa
fminibayeva@gmail.com

Abstract

Lichens synthesize a large number of secondary metabolites, including “lichen substances”. The presence of lichen substances allows lichens to grow in diverse, often stressful, ecological niches. Among the secondary metabolites of lichens, light-protective pigments are of particular interest. The dark brown pigment melanin plays a significant role in protecting lichens from UV-B stress, but the key drivers of melanization remain unexplored. Melanins are hydrophobic heterogeneous polymers formed by sequential reactions of oxidation of phenolic/indole precursors and subsequent polymerization of intermediate phenols and quinones. The formation of a melanin layer on the surface of the thallus in response to UV exposure is one of the key mechanisms of high tolerance of lichens not only to light stress, but also to desiccation. We showed that the binding of water molecules to melanin depends on the activity of specific functional groups in the structure of this polymer, elemental composition, and the presence of associated compounds, including polysaccharides, and the ultrastructure of melanin particles. The anthraquinone parietin is the dominant cortical pigment of the lichens *Caloplaca* and *Xanthoria* of the family *Teloschistaceae*. Along with providing protection to the thallus from high photosynthetically active radiation and UV radiation, parietin has antioxidant properties and helps to protect lichens from cadmium toxicity and desiccation. Parietin protects lichen thalli from abiotic stress by maintaining membrane stability, providing antioxidant defense, forming a structural barrier, and sustaining water in the cortex of lichen thalli. The unique properties of lichen pigments make these natural polymers promising objects for fundamental and applied research, in particular in medicine, biotechnology and “green electronics”.

Keywords:

lichens, light stress, light-protective pigments, resistance to dehydration

Лишайники – симбиотические ассоциации, состоящие, в основном, из грибов аскомицетов (микобионты) и водорослей и/или цианобактерий (фотобионты). В действительности лишайники представляют собой миниатюрные экосистемы, поскольку, наряду с основными симбионтами, таллом лишайника содержит также весьма специфичную бактериальную микробиоту и паразитирующие лихенофильные грибы. Несмотря на то, что эти древние ассоциации возникли около 450 млн л. н., они являются нашими современниками. Одной из причин такого эволюционного долголетия являются их уникальная устойчивость к действию неблагоприятных факторов и способность выживать в чрезвычайно суровых условиях окружающей среды, таких как засуха, низкие температуры, длительная темнота, избыточная радиация. Среди биохимических механизмов естественной селекции лишайников особое внимание привлекают синтез и накопление в талломе защитных метаболитов. Лишайники производят множество алифатических и ароматических соединений, которые синтезируются в результате первичного или вторичного метаболизма. Первичные метаболиты – это внутриклеточные молекулы, необходимые для выполнения основных функций жизни. Они относятся к различным химическим классам, включая аминокислоты, пептиды, белки, полиолы, моно-, олиго- и полисахариды, липиды, каротиноиды и витамины. Многие из этих первичных метаболитов не являются специфичными только для лишайников и могут быть легко обнаружены в свободноживущих грибах, водорослях, а также высших растениях. В симбиозе лишайников оба партнера – микобионт и фотобионт – несут ответственность за производство этих первичных метаболитов. В отличие от этого, вторичные метаболиты синтезируются, в основном, лихенизированными грибами. Лишайники синтезируют огромное количество вторичных метаболитов, в том числе так называемых «лишайниковых веществ». Первые сообщения о лишайниковых веществах появились в XIX в. В настоящее время в лишайниках идентифицировано более 1050 различных вторичных метаболитов, из них около 700 уникальны для лишайников [1]. В лишайниках известны три основных пути биосинтеза вторичных метаболитов: ацетил-малонатный, шикиматный и мевалонатный. Вторичные метаболиты по биосинтетическому происхождению и химической структуре классифицируются по таким классам соединений, как дибензофураны, депсиды и депсидоны, нафтохиноны, антрахиноны, ксантоны и др. [2]. Количество вторичных метаболитов варьирует обычно от 0,1 до 10 %, а иногда достигает 30 % от сухого веса таллома. Эти соединения широко используются в хемотаксономии и систематике лишайников. Кроме того, благодаря своим физико-химическим характеристикам вторичные метаболиты обеспечивают фиксацию лишайников на определенных субстратах, в том числе чрезвычайно обедненных органическими веществами, таких как камни, скалы, лава. Наличие лишайниковых веществ позволяет лишайникам произрастать в разнообразных, зачастую стрессовых, экологических нишах. Лишайниковые

вещества вовлечены в селективный выбор симбионтов, аллелопатию, они регулируют фотосинтез, дыхание, проявляют защитные свойства, в том числе защиту талломо от световой радиации, патогенных бактерий и грибов. Эти соединения важны также для круговорота металлов и защиты таллома лишайников от химического загрязнения. Одними из интенсивно изучаемых свойств метаболитов лишайников являются их антиоксидантные свойства. Биосинтез разнообразных вторичных метаболитов – это компромисс, которым лишайники «оплачивают» защиту важных метаболических процессов в талломе, таких как фотосинтез и дыхание.

Изучение вторичных метаболитов лишайников затруднено из-за особенностей, присущих биологии лишайников. Чрезвычайно медленный рост лишайников (от 0,5 до 8 мм в год), тесное взаимодействие между симбионтами, сложности реконструкции симбиоза в лабораторных условиях и химическая сложность вторичных метаболитов затрудняют раскрытие генетических путей, участвующих в биосинтезе этих соединений. Задачи по расшифровке тонких механизмов биосинтеза вовлекают метагеномное секвенирование, культивирование *in vitro* и метаболомный анализ.

Как правило, лишайники устойчивы к световому стрессу, в том числе благодаря наличию фотозащитных вторичных метаболитов. Так, темно-коричневый пигмент меланин играет значительную роль в защите лишайников от УФ-Б стресса, однако ключевые драйверы меланизации остаются неизученными. Меланины – гидрофобные гетерогенные полимеры, образованные последовательными реакциями окисления фенольных/индольных предшественников и последующей полимеризации промежуточных фенолов и хинонов. Мы обнаружили, что УФ-Б индуцирует меланизацию таллома *Lobaria pulmonaria* и некоторых других лишайников и показали, что меланин обеспечивает защиту фотобионта от фотоингибирования, вызванного высокой освещенностью [3]. Транскриптомное профилирование лишайника *L. pulmonaria* продемонстрировало дифференциальную экспрессию генов синтеза нескольких типов меланина и других вторичных метаболитов. Воздействие УФ-Б вызывало значительное потемнение верхнего кортекса таллома, что коррелировало с повышенной экспрессией биосинтетических генных кластеров, участвующих в синтезе эу- и алломеланинов, а также предшественников меланинов [4]. Профили экспрессии общих стресс-ассоциированных генов, в частности, связанных с детоксикацией активных форм кислорода (далее – АФК), защитой белков и восстановлением ДНК, указывают на то, что микобионт является более чувствительным к УФ-Б облучению и восприимчивым партнером в симбиозе лишайников.

С помощью комплекса биохимических и биофизических методов показано, что меланины лишайников обладают антиоксидантными, хелатирующими и парамагнитными свойствами. Выраженная антиоксидантная активность зумеланина, экстрагированного из *L. pulmonaria*, была подтверждена реакциями по тушению радикала DPPH и эффективной способностью к хелатированию Fe²⁺. Ана-

лиз парамагнитных характеристик меланинов лишайников продемонстрировал, что ЭПР спектр меланина из *L. pulmonaria* имеет типичную картину асимметричного синглета с концентрацией парамагнитных комплексов $0,64 \times 10^{17}$ спин g^{-1} [5]. Похожими антиоксидантными и парамагнитными характеристиками обладают и алломеланины, экстрагированные из лишайников *Cetraria islandica* и *Pseudevernia furfuracea* [6]. Кроме того, нами была обнаружена способность меланина, выделенного из лишайника *L. pulmonaria*, противостоять окислительному стрессу и связанным с ним повреждениям в модельных животных тканях – диафрагме мыши, основной дыхательной мышце. Предварительная обработка мышц меланином заметно снижала УФ-индуцированное увеличение внутриклеточных и внеклеточных АФК, а также опосредованное митохондриальным ингибитором антимицином А увеличение продукции АФК в митохондриях, сопровождающееся перекисным окислением липидов и потерей асимметрии мембран [5]. Кроме того, меланин ослаблял подавление нервно-мышечной передачи и изменения сократительных реакций, спровоцированные экзогенной H_2O_2 . Как известно, избыток АФК нарушает сокращение и нервно-мышечную передачу, вызывая дисфункцию скелетных мышц и утомляемость [7]. Окислительный стресс является одним из основных причинных факторов патологических изменений мышц при различных заболеваниях. Таким образом, полученные нами результаты проливают свет на перспективы применения меланина лишайника в качестве защитного компонента для лечения заболеваний скелетных мышц, которые сопровождаются повышенным производством АФК.

Известно, что меланины – универсальные темные пигменты, встречаются во многих организмах, в том числе и животных. Эндогенный меланин присутствует в коже, волосах, глазах, ушах и нервной системе млекопитающих, где он выполняет функции антиоксиданта, противовоспалительного вещества, светового сенсора и поглотителя токсичных соединений [8]. Однако следует отметить, что меланины также могут проявлять прооксидантные свойства и опосредовать фототоксичность. При УФ-облучении синтетические эумеланины и феомеланины, а также некоторые природные меланины могут генерировать АФК, включая H_2O_2 , супероксидный анион-радикал и даже синглетный кислород [9]. Кроме того, фотореактивность меланина значительно возрастает по мере фотодеградации пигмента и образования интермедиатов радикальной природы, что приводит к снижению антиоксидантной способности меланина.

Еще одним пигментом, поглощающим УФ, является оранжевый пигмент париедин антрахиноновой природы. Париедин является доминирующим кортикальным пигментом лишайников *Caloplaca* и *Xanthoria* из семейства *Teloschistaceae*, он также синтезируется в органах покрытосеменных растений, например, в корнях *Rumex crispus*. Известно, что париедин из *X. parietina* обладает антиоксидантными свойствами, однако его основная защитная роль – это защита таллома от высокой фотосинтетически

активной радиации и УФ-излучения. Существуют данные о роли париедина в защите *X. parietina* от кадмиевой токсичности благодаря снижению Cd-индуцированного окислительного стресса [10]. Интересно, что удаление париедина щадящим способом не влияет на интенсивность фотосинтеза, однако приводит к снижению стабильности мембран микобионта при обезвоживании, вероятно, вследствие повышения уровня перекисного окисления липидов [11]. Биоинформатический анализ показал, что гены, вовлеченные в биосинтез париедина, организованы в биосинтетические генные кластеры. Обезвоживание приводит к повышению уровня экспрессии генов биосинтеза париедина, а также генов, кодирующих осмосенсорные, осмопротекторные и антиоксидантные белки. Анализ талломов *X. parietina* методами биохимии, биофизики и микроскопии свидетельствует о том, наличие париедина вносит вклад в защиту талломов лишайника от абиотических стрессов благодаря поддержанию стабильности мембран, обеспечению антиоксидантной защиты и формированию структурного барьера в кортексе талломов лишайника.

Различные вторичные метаболиты защищают лишайники от света разной длины волны и проявляют синергетические свойства в качестве антиоксидантов для защиты таллома лишайника и фотосистем фотобионта. Это было продемонстрировано для вульпиновой, пинастровой и усниновой кислот в лишайниках *Vulpicida pinastri* и *Letharia vulpina*. Интересно, в системе животных клеток усниновая кислота может проявлять как анти-, так и прооксидантное действие. Так, в высокой концентрации усниновая кислота, выделенная из лишайника *Xanthoparmelia farinosa*, вызывала повреждающий эффект на клеточные мембраны и снижала метаболизм в клеточной линии лимфоцитов человека при действии УФ-облучения. Однако в низких концентрациях и при физиологической интенсивности УФ-излучения усниновая кислота проявляла антиоксидантные свойства [12].

Таким образом, уникальные свойства метаболитов лишайников делают эти естественные полимеры перспективными объектами для фундаментальных и прикладных исследований, в частности, для развития так называемой «зеленой электроники», применения в медицине, биотехнологии и ремедиации.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источники и литература/References

1. Gill, H. Lichen fungal secondary metabolites: progress in the genomic era toward ecological roles in the interaction / H. Gill, J. L. Sorensen, J. Collemare. – Springer International Publishing : Plant Relationships: Fungal-Plant Interactions, 2022. – P. 185–208.
2. Goga, M. Lichen metabolites: an overview of some secondary metabolites and their biological potential / M. Goga, J. Elečko, M. Marcincinová [et al.]. – Springer International Publishing : Reference Series in Phytochemistry, 2020. – P. 175–209.

3. Beckett, R. P. Improved photoprotection in melanized lichens is a result of fungal solar radiation screening rather than photobiont acclimation / R. P. Beckett, K. A. Solhaug, Y. Gauslaa, F. Minibayeva // *The Lichenologist*. – 2019. – Vol. 51. – № 5. – P. 483–491.
4. Leksin, I. Ultraviolet-induced melanisation in lichens: physiological traits and transcriptome profile / I. Leksin, M. Shelyakin, I. Zakhozhiy [et al.] // *Physiologia Plantarum*. – 2024. – Vol. 176. – № 5. – P. e14512.
5. Minibayeva, F. V. Protective properties of melanin from lichen *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. in models of oxidative stress in skeletal muscle / F. V. Minibayeva, A. E. Rassabina, G. F. Zakirjanova [et al.] // *Fitoterapia*. – 2024. – Vol. 177. – P. 106127.
6. Rassabina, A. E. Melanin from the lichens *Cetraria islandica* and *Pseudevernia furfuracea*: structural features and physicochemical properties / A. E. Rassabina, O. P. Gurjanov, R. P. Beckett, F. V. Minibayeva // *Biochemistry*. – 2020. – Vol. 85. – P. 623–628.
7. Dogan, S. A. Redox signaling and stress in inherited myopathies / S. A. Dogan, G. Giacchin, E. Zito, C. Viscomi // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2022. – Vol. 37. – № 4–6. – P. 301–323.
8. Korytowski, W. Antioxidant action of neuromelanin: the mechanism of inhibitory effect on lipid peroxidation / W. Korytowski, T. Sarna, M. Zarba // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 1995. – Vol. 319. – № 1. – P. 142–148.
9. Mokrzyński, K. Photoreactivity and phototoxicity of experimentally photodegraded hair melanosomes from individuals of different skin phototypes / K. Mokrzyński, M. Sarna, T. Sarna // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. – 2023. – Vol. 243. – P. 112704.
10. Kalinowska, R. Parietin in the tolerant lichen *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. increases protection of *Trebouxia* photobionts from cadmium excess / R. Kalinowska, M. Bačkor, B. Pawlik-Skowrońska // *Ecological Indicators*. – 2015. – Vol. 58. – P. 132–138.
11. Daminova, A. G. The roles of the anthraquinone parietin in the tolerance to desiccation of the lichen *Xanthoria parietina*: physiology and anatomy of the pale and bright-orange thalli / A. G. Daminova, I. Y. Leksin, V. R. Khabibrahmanova [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2024. – Vol. 25. – № 13. – P. 7067.
12. Kohlhardt-Floehr, C. Prooxidant and antioxidant behaviour of usnic acid from lichens under UVB-light irradiation-studies on human cells / C. Kohlhardt-Floehr, F. Boehm, S. Troppens [et al.] // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. – 2010. – Vol. 101. – № 1. – P. 97–102.

Благодарность (госзадание):

Работа выполнена в рамках реализации государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН и поддержана грантом РФФИ № 23-14-00327 (анализ меланина и париетина).

Acknowledgements (state task):

The work was performed within the frames of the state task of the FRC KazSC RAS and financially supported by the RSF grant № 23-14-00327 (melanin and parietin analysis).

Информация об авторах:

Минибаева Фариды Вилевны – доктор биологических наук, заведующий лабораторией окислительно-восстановительного метаболизма Казанского института биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, <https://orcid.org/0000-0003-0827-181X>; (420111, Российская Федерация, г. Казань, ул. Лобачевского, д. 2/31; email: fminibayeva@gmail.com, minibayeva@kibb.knc.ru).

Бекетт Ричард Питер – профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории окислительно-восстановительного метаболизма Казанского института биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, <https://orcid.org/0000-0002-0530-4244> (420111, Российская Федерация, г. Казань, ул. Лобачевского, д. 2/31); Школа наук о жизни, Университет КваЗулу-Натал (Южно-Африканская Республика, г. Скоттсвилл, 3209, а/я X01; email: rpbeckett@gmail.com).

About the authors:

Farida V. Minibayeva – Doctor of Sciences (Biology), Head of the Redox Metabolism Laboratory at the Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Science Center of the Russian Academy of Sciences, <https://orcid.org/0000-0003-0827-181X> (2/31 Lobachevsky str., 420111 Kazan, Russian Federation, e-mail: fminibayeva@gmail.com, minibayeva@kibb.knc.ru).

Richard Peter Beckett – Professor, Leading Researcher at the Redox Metabolism Laboratory at the Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan Science Center of the Russian Academy of Sciences, <https://orcid.org/0000-0002-0530-4244> (2/31 Lobachevsky str., 420111 Kazan, Russian Federation, e-mail: rpbeckett@gmail.com); School of Life Sciences, University of KwaZulu-Natal (PBag X01, Scottsville 3209, Republic of South Africa, e-mail: rpbeckett@gmail.com).

Для цитирования:

Минибаева, Ф. В. Роль светозащитных пигментов в стрессовой устойчивости лишайников / Ф. В. Минибаева, Р. П. Бекетт // Известия Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук. Серия «Экспериментальная биология и экология». – 2024. – № 9 (75). – С. 13–17.

For citation:

Minibayeva, F. V. Rol sveto-zashchitnykh pigmentov v stressovoj ustojchivosti lishajnikov [The role of light-protective pigments in stress tolerance of lichens] / F. V. Minibayeva, R. P. Beckett // Proceedings of the Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. Series "Experimental Biology and Ecology". – 2024. – № 9 (75). – P. 13–17.

Дата поступления статьи: 16.09.2024

Прошла рецензирование: 26.09.2024

Принято решение о публикации: 30.09.2024

Received: 16.09.2024

Reviewed: 26.09.2024

Accepted: 30.09.2024