

УДК 581.1

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЕЛАНИЗИРОВАННОГО ТАЛЛОМА ЛИШАЙНИКА *Cetraria islandica*

© 2024 г. А. Г. Даминова^{а, *}, Е. И. Галеева^а, Д. Ф. Рахматуллина^а,
Л. В. Викторова^а, Ф. В. Минибаева^{а, б}

^аКазанский институт биохимии и биофизики — обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра “Казанский научный центр Российской академии наук”, Казань, Россия

^бКазанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

*e-mail: daminova.ag@gmail.com

Поступила в редакцию 20.02.2024 г.

После доработки 13.03.2024 г.

Принята к публикации 18.03.2024 г.

Лишайники представляют собой экстремофильные симбиотические ассоциации, обладающие феноменальной устойчивостью к действию абиотических стрессовых факторов. Меланизация талломов является одним из защитных механизмов лишайников в ответ на УФ-воздействие в условиях избыточной инсоляции. Микроструктура и биохимические особенности меланизированных талломов лишайников, однако, остаются малоизученными. В настоящей работе мы проанализировали морфологию, наномеханические и физиолого-биохимические свойства естественно-меланизированных талломов лишайника *Cetraria islandica*. Меланиновая природа пигментированного слоя верхнего кортекса таллома *C. islandica* подтверждена окрашиванием в результате качественных реакций, характерных для меланинов. Установлено, что меланизация приводит к изменениям микроструктуры верхнего кортекса микобионта, в частности утолщению клеточных стенок и увеличению межгифового пространства. Наномеханические свойства, в том числе параметры адгезии и жесткости, отличались у меланизированных и бледных (немеланизированных) талломов, что свидетельствует о возможном образовании сложных ассоциатов меланина с компонентами клеточных стенок микобионта при меланизации. Кроме того, обнаружено, что меланизированные талломы *C. islandica* характеризуются высокой антиоксидантной активностью и пониженной дыхательной активностью, по сравнению с таковыми у бледных талломов. Можно полагать, что изменения в микроструктуре, наномеханических и физиолого-биохимических свойствах талломов, происходящие в ходе меланизации, способствуют формированию устойчивости лишайников к воздействию интенсивной инсоляции.

Ключевые слова: *Cetraria islandica*, антиоксидантная активность, дыхание, лишайники, меланизация, морфология таллома, топография

DOI: 10.31857/S0015330324040046, EDN: MOANOI

ВВЕДЕНИЕ

Лишайники представляют собой фотосинтезирующие симбиотические ассоциации, таллом которых образован двумя основными партнерами — микобионтом и фотобионтом [1]. Лишайники относят к экстремофильным организмам ввиду их феноменальной устойчивости к действию неблагоприятных факторов окружающей среды, таких как обезвоживание, перепады температур, ультрафиолетовое (УФ) излучение [2]. Среди механизмов высокой стрессовой устойчивости лишайников немаловажную роль мо-

жет играть синтез вторичных метаболитов, в том числе меланинов. Темный пигмент меланин, синтезирующийся в некоторых видах лишайников при действии интенсивной естественной инсоляции или УФ-облучения, представлен в виде пигментированного слоя на поверхности талломов лишайников. Меланины — это продукты окислительной полимеризации фенольных или индольных соединений, способные поглощать свет широкого спектра длин волн, включая гамма-лучи, рентгеновское и УФ-излучение, что позволяет им проявлять фотопротекторные свойства [3–5]. Меланины в талломе лишайников также проявляют фотозащитные и антиоксидантные свойства [6]. В литературе представлены единичные работы по характеристике морфологии пигментированных талломов лишайников,

Сокращения: АСМ — атомно-силовая микроскопия; Л-ДОФА — 3,4-Л-дигидроксифенилаланин; СЭМ — сканирующая электронная микроскопия; УФ излучение — ультрафиолетовое излучение.

что может быть связано со сложностью анатомического строения таллома, взаимодействием грибных и фотосинтезирующих симбионтов и разнообразием путей биосинтеза метаболитов. Так, ранее нами проанализированы микроструктура и элементный состав пигментированного слоя верхнего кортекса талломов лишайника *Lobaria pulmonaria* при УФ-В облучении [7]. Показано, что пигментация талломов *L. pulmonaria* обусловлена УФ-В индуцированным синтезом эумеланина. Меланизация талломов *L. pulmonaria* приводила к изменению наномеханических параметров, а именно уменьшению адгезионных свойств пигментированного слоя клеток верхнего кортекса талломов [8]. В качестве объекта исследования настоящей работы был выбран лишайник *Cetraria islandica* (L.) Ach. (исландский мох), микобионтом которого является гриб *Cetraria*, а фотобионтом зеленая водоросль *Trebouxia* sp. *Cetraria islandica* представляет собой разветвленный, кустистый лишайник с прямостоячим листоватым слоевищем по цвету от серовато-белого до темно-коричневого, может достигать до 7 см в высоту. Этот лишайник является представителем арктической, субарктической и альпийской растительности во всем северном полушарии. Таллом *C. islandica* широко используется в фармакологии в качестве антимикробного препарата и биологически активной добавки. Высокая биологическая активность этого лишайника во многом обусловлена наличием в талломе уникальных лишайниковых метаболитов, в частности полисахарида лихенина. Методами низкотемпературной сканирующей электронной микроскопии и иммуноцитохимии в непигментированных талломах лишайников *C. islandica* и *Evernia prunastri* в качестве структурного элемента стенки гифа гриба визуализирован лихенин, участвующий преимущественно в водном обмене [9]. Ранее было показано, что УФ-облучение индуцирует синтез меланина в талломе *C. islandica* [10, 11], однако информация о микроструктуре таллома при меланизации отсутствует в литературе. Морфология и топография таллома могут обуславливать его физико-химические свойства и физиологические функции. В связи с этим целью настоящей работы явился анализ структурных характеристик, в том числе морфологии и наномеханических свойств, а также физиолого-биохимических характеристик, в частности антиоксидантных свойств и дыхательной активности, естественно-меланизированного таллома лишайника *C. islandica*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор материала. Бледные и меланизированные талломы лишайника *Cetraria islandica* (L.) Ach. были собраны в затемненных и хорошо ос-

вещенных участках в окрестностях г. Сыктывкар. Материал очищали от загрязнений, медленно высушивали при комнатной температуре при относительной влажности 60–70% и далее хранили при температуре –20°C. Перед началом экспериментов талломы лишайника гидратировали на влажной фильтровальной бумаге при температуре 10°C в течение 24 ч.

Качественные реакции на меланин. Для проведения качественных реакций были получены поперечные срезы бледных и меланизированных талломов лишайника *C. islandica* толщиной 50 мкм с помощью вибратора Leica VT 1000S (“Leica”, Германия). Срезы были окрашены несколькими способами:

1. Срезы окрашивали 0.2% 3,4-Л-дигидроксибензилаланином (L-ДОФА) в течение 1 ч в темноте [12].

2. Срезы окрашивали 1% раствором азура II в течение 30 мин. Затем добавляли 0.5% раствор эозина на несколько минут по протоколу Рожнака [13].

3. Срезы инкубировали в 2.5% растворе FeSO_4 в течение 1 ч, затем инкубировали в 1% растворе $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ в течение 30 мин, а затем в смеси этанол-ксилол (50:50 по объему) по протоколу Лилли [14].

Окрашенные срезы талломов лишайника анализировали с помощью эпифлуоресцентного микроскопа Leica DM1000 (“Leica”, Германия) и цифровой камеры (“Sony”, Китай). Для определения толщины пигментированного слоя проанализировано 15 срезов из трех биологических повторов с помощью встроенного программного обеспечения для микроскопа.

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ). Поперечные срезы бледных и меланизированных талломов лишайника *C. islandica* фиксировали в 2.5% глутаровом альдегиде, приготовленном в 0.1 М Na-фосфатном буфере pH 7.4, в течение 24 ч. После обезвоживания в серии разведений этанольного спирта, срезы инкубировали в смеси гексаметилдисилазана и этанола в соотношениях 1:3, 1:1, 3:1 (по объему) по 30 мин. Далее срезы помещали в 100% гексаметилдисилазан на 60 мин. Морфологию структурированной поверхности бледных и меланизированных талломов лишайника после напыления золотом (высоковакуумная напылительная система Q150T ES, “Quorum Technologies”, Великобритания) визуализировали с помощью сканирующего электронного микроскопа высокого разрешения (“Merlin”, Германия) при ускоряющем напряжении 5 кВ. Для оценки относительной толщины клеточных стенок гиф в бледных и меланизированных талломах определяли количество гиф на единицу площади поперечного сечения СЭМ-изображений с использованием графической программы ImageJ.

Атомно-силовая микроскопия (АСМ). Бледные и меланизированные талломы лишайника *C. islandica* фиксировали в 2.5% глutarовом альдегиде, постфиксировали в тетроксиде осмия ("Sigma", США), обезжизняли в этанольном спирте в возрастающих концентрациях от 30% до 96% раствора и ацетоне. Образцы полимеризовали в смоле LR White ("Sigma", США) при 60°C в течение 24 ч. Верхнюю поверхность блоков образцов выравнивали с помощью алмазного ножа. Верхний кортекс талломов лишайника на поперечном срезе визуализировали с помощью микроскопа Bruker Dimension FastScan ("Bruker", США) в режиме PeakForceQNM с кантилеверами ScanAsyst-Air ("Bruker", США). Изображения были получены с разрешением 512 строк на сканирование.

Ферментативная активность талломов лишайников. Грубый ферментный экстракт получали путем гомогенизации регидратированного лишайника в жидком азоте и последующей экстракции в 50 mM Na-фосфатном буфере pH 7.0 в течение 1 ч. Гомогенат центрифугировали при 10000 g в течение 30 мин. Экстракт высаливали сульфатом аммония в 30–80% градиенте насыщения. После центрифугирования осадок ресуспендировали в минимальном объеме 25 mM Трис-HCl буфера pH 7.5. Активность ферментов определяли спектрофотометрически на приборе UV-1600 ("Shimadzu", Япония). Активность лакказы определяли по скорости окисления 1 mM о-дианизида ($d_{460} = 30.0 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) в 80 mM ацетатном буфере, pH 4.5. Активность тирозиназы определяли по скорости окисления 2 mM L-DOPA ($d_{475} = 3.6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) в 50 mM Na-фосфатном буфере pH 6.0 [15].

Детоксикация H_2O_2 . Фрагменты бледных и меланизированных талломов *C. islandica* инкубировали в 0.05 M Na-фосфатном буфере pH 7.0 с добавлением 500 мкМ H_2O_2 в темноте. Через 20, 40 и 60 мин измеряли содержание H_2O_2 в растворе инкубации с использованием ксиленолового оранжевого ($\lambda = 560 \text{ nm}$) [16] на спектрофотометре UV-1600 ("Shimadzu", Япония). Для построения калибровочной кривой использовали растворы с известным содержанием H_2O_2 . В контрольных вариантах (без добавления фрагментов таллома) изменения содержания H_2O_2 не происходило.

Интенсивность дыхания. Интенсивность дыхания бледных и меланизированных талломов лишайника *C. islandica* определяли манометрическим методом в аппарате Варбурга ("Warburg-Apparat VEB Glaswerke Stutzbach", Германия) [17]. Расчеты проводили в мкл O_2 за 1 ч на 1 г сухой массы.

Статистика. Опыты проводили в 3–6 биологических повторностях и 3–14 аналитических повторностях. Полученные данные представлены в виде средних арифметических значений

со стандартными ошибками (SE). Все экспериментальные данные имеют нормальное распределение признака. Для сравнения их средних арифметических значений использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с оценкой попарных различий с помощью критерия Тьюки, Бонферрони.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Морфологический анализ талломов лишайников с помощью качественных реакций

С помощью световой микроскопии на поперечных срезах пигментированного таллома *C. islandica* был визуализирован темно-коричневый слой на поверхности верхнего кортекса, под которым располагались непигментированные гифы гриба и водоросли (рис. 1д). Толщина пигментированного слоя варьировала в среднем от 5 до 8 мкм. Для выявления меланиновой природы пигментации талломов *C. islandica* были проведены качественные реакции. Так, поперечные срезы были окрашены красителем L-ДОФА, являющимся субстратом фенолоксидаз, в том числе тирозиназ и лакказы, вовлеченных в синтез меланина [18]. После окрашивания верхний слой коры пигментированного, но не бледного, таллома *C. islandica* приобрел интенсивно коричневый цвет (рис. 1б, е). С помощью окрашивания по методу Рожняка с использованием эозина на срезах пигментированного таллома были визуализированы темно-коричневые клетки (рис. 1ж). После окрашивания по методу Лилли, основанном на окислении железа, темный пигмент также визуализировался только у пигментированных талломов *C. islandica* (рис. 1з).

Микроструктура талломов лишайника C. islandica с помощью сканирующей электронной микроскопии

Микроструктура поперечных срезов бледного и меланизированного талломов лишайника *C. islandica* была визуализирована с помощью СЭМ. Показано, что толщина верхнего кортекса меланизированного таллома больше, чем таковая бледного таллома. Так, у бледного таллома верхний корковый слой представлен грибными гифами с многочисленными порами (рис. 2а), тогда как у меланизированного таллома *C. islandica* количество пор на единицу площади поперечного сечения было в 3.8 раз меньше, что свидетельствует об утолщении клеточных стенок гиф (рис. 2б).

Наномеханические свойства талломов лишайника C. islandica с помощью атомно-силовой микроскопии

Для изучения топографии верхнего кортекса поперечных срезов талломов *C. islandica* мы проанализировали рельеф, адгезию и жесткость по-

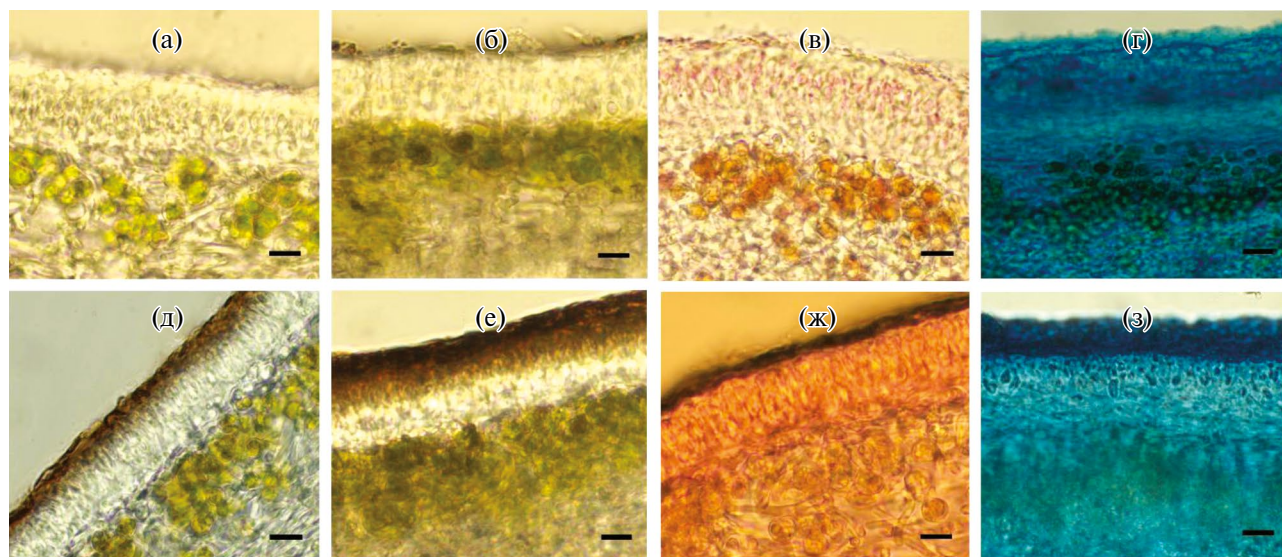


Рис. 1. Поперечные срезы бледных (а-г) и меланизированных (д-з) талломов лишайника *C. islandica*: неокрашенные талломы (а, д); L-ДОФА окрашивание (б, е); окрашивание по Рожняку (в, ж) и по Лилли (г, з). Масштабная линейка — 10 мкм.

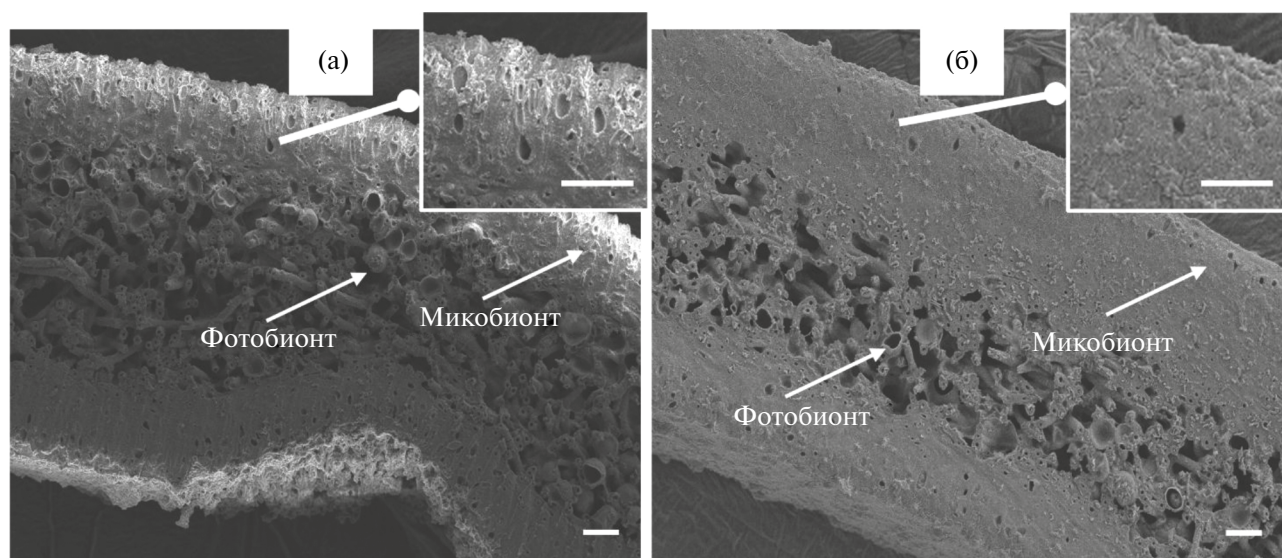


Рис. 2. Сканирующие электронные микрофотографии поперечных срезов бледного (а) и меланизированного (б) талломов лишайника *C. islandica*. Масштабная линейка — 10 мкм.

верхности срезов бледных и меланизированных талломов *C. islandica* с помощью АСМ (рис. 3).

Изображение по высоте, полученное при сканировании вдоль главной оси зондового датчика, у бледного таллома заметно отличалось от изображения меланизированного таллома. Так, цветовая насыщенность рельефа бледного таллома была в 1.2 раза выше таковой меланизированного таллома (рис. 3а, г). Адгезия поверхности меланизированного таллома примерно в четыре раза больше по сравнению с таковым значением для бледного таллома (рис. 3б, д). В то же время значение жесткости меланизированного таллома снижено более

чем в 10 раз по сравнению с показателем для бледного таллома (рис. 3в, е).

Окислительно-восстановительная и дыхательная активность бледных и меланизированных талломов C. islandica

При измерении активности фенолоксидаз, таких как лакказы и тирозиназы, наибольшие значения были детектированы для лакказ. Этот показатель у меланизированных талломов *C. islandica* составлял 167 ± 12 нкат на г^{-1} сухого вещества, что было выше в 1.3 раза по сравнению с активностью лакказы 131 ± 7 нкат на г^{-1} сухого вещества в бледном талломе. Активность

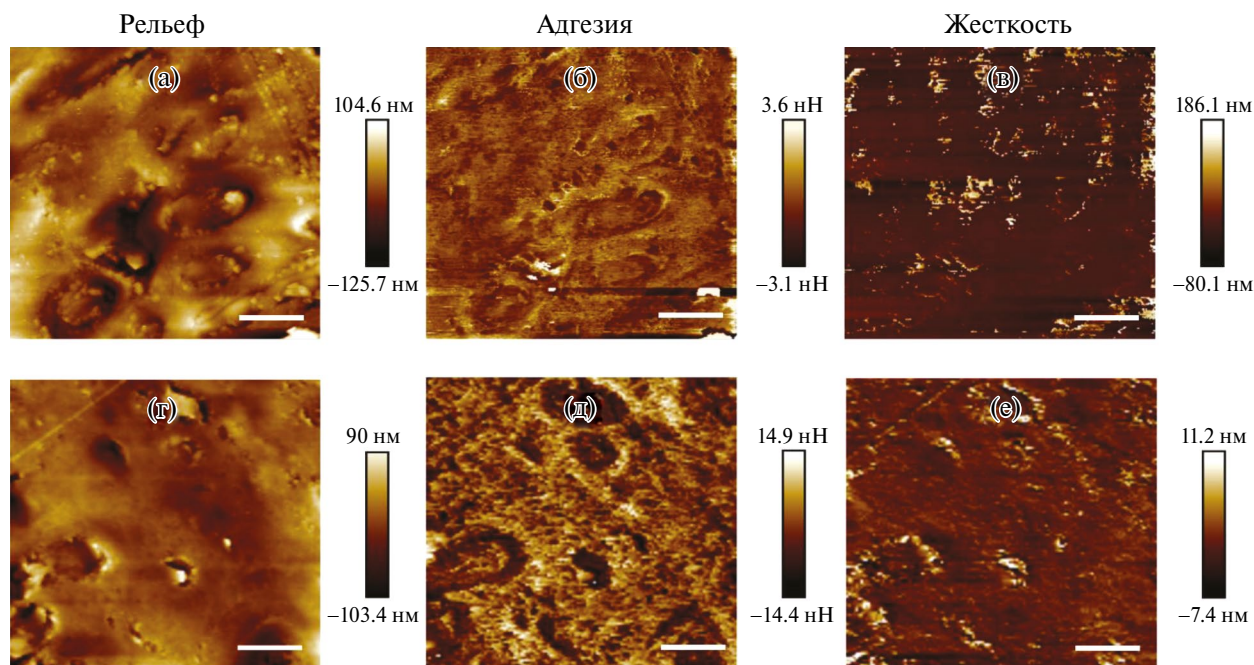


Рис. 3. Рельеф (а, г), адгезия (б, д), жесткость (в, е) поверхности поперечных срезов бледного (а–в) и меланизированного (г–е) талломов лишайника *C. islandica*, полученные с помощью атомно-силовой микроскопии. Масштабная линейка – 2 мкм.

тирозины была низкой и в бледном, и в меланизированном талломах *C. islandica* (данные не представлены).

Важным показателем антиоксидантной активности образца является скорость разложения H_2O_2 . Анализ скорости деградации экзогенной H_2O_2 в концентрации 500 мкМ талломами лишайника *C. islandica* продемонстрировал, что меланизированные талломы лишайника могут

значительно более эффективно (на 50%) разлагать экзогенную H_2O_2 в течение 1 ч, по сравнению с бледными талломами (рис. 4а).

Анализ интенсивности дыхательной активности талломов лишайника *C. islandica* показал, что скорость дыхания меланизированных талломов *C. islandica* почти вдвое ниже по сравнению со скоростью дыхания бледных талломов (рис. 4б).

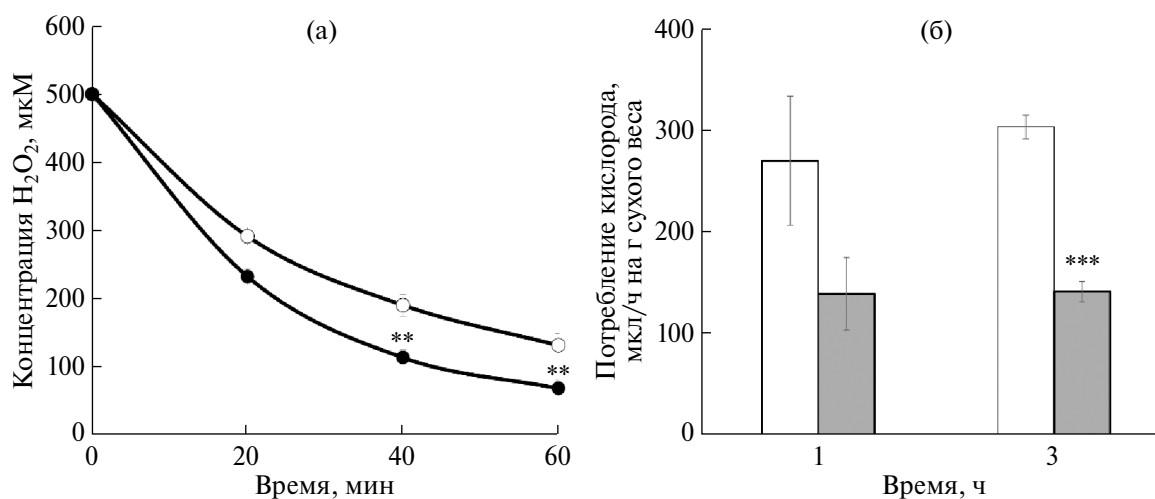


Рис. 4. Окислительно-восстановительная активность (а) и интенсивность дыхания талломов лишайника *C. islandica* (б). (а) – деградация экзогенной 500 мкМ H_2O_2 бледными (белые кружки) и меланизированными (черные кружки) талломами *C. islandica*. (б) – интенсивность дыхания бледных (белые столбцы) и меланизированных талломов *C. islandica* (черные столбцы). Достоверность различий определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA при $P < 0.01$ (**), $P < 0.001$ (***)

ОБСУЖДЕНИЕ

Лишайники — это экстремофильные организмы, успешно выживающие в самых неблагоприятных условиях среды [19]. В ответ на стрессовое воздействие, связанное с интенсивной солнечной радиацией и УФ-излучением, талломы лишайника *C. islandica* приобретают темно-окрашенную пигментацию, обусловленную синтезом пигмента меланина в верхнем кортексе талломов. Меланины — универсальные пигменты, характерные многим организмам. На сегодняшний день большинство работ, посвященных изучению морфологии и свойств меланинов, выполнены на патогенных грибах [20–22], бактериях [23, 24], меланосомах человека [25, 26]. Ранее нами были проанализированы физико-химические свойства меланинов, экстрагированных из лишайников *C. islandica*, *Lobaria pulmonaria* и *Leptogium furfuraceum* [27–29]. Несмотря на то, что роль меланизации в защите лишайников от солнечной радиации широко описана в литературе [30, 31], существуют лишь единичные работы, посвященные исследованию архитектуры меланинового слоя в талломах лишайников *in situ* [7, 8]. В настоящей работе выявлены особенности морфологии и топографии поверхности корового слоя меланизированного таллома лишайника *C. islandica*. Так, меланизированные талломы *C. islandica* характеризовались потемнением поверхности верхнего кортекса и характерным для меланинов окрашиванием (рис. 1), а также утолщением клеточных стенок и увеличением межгифового пространства верхнего корового слоя, визуализированного на поперечных срезах талломов (рис. 2). Ранее мы показали, что меланизация лишайника *L. pulmonaria* сопровождается увеличением межгифового пространства и накоплением меланиноподобных гранул [7]. Можно полагать, что увеличение межгифового пространства верхнего корового слоя талломов является характерной морфологической особенностью лишайников при УФ-индуцированной меланизации. Нами также было показано, что меланизация талломов лишайника *L. pulmonaria* приводила не только к морфологическим изменениям, но и к изменению физических свойств талломов, обусловленному образованием меланиновых комплексов [8]. В настоящей работе с помощью АСМ была охарактеризована топография и проанализированы наномеханические свойства верхнего корового слоя поперечных срезов лишайника *C. islandica*. Обнаружено, что в меланизированных талломах *C. islandica* происходит повышение адгезии корового слоя, а параметры жесткости значительно снижаются по сравнению с таковыми в бледных талломах (рис. 3). Это свидетельствует о высокой хелатирующей способности меланина и возможном образовании

сложных ассоциатов меланина с полисахаридами и белками клеточных стенок. По предварительным данным, процентная доля полисахаридов, в частности лихенина и изолихенина, в меланиновых ассоциатах у *C. islandica* выше, чем у *L. pulmonaria*, что может повышать сорбционные свойства и оказывать влияние на топографические характеристики меланизированного верхнего корового слоя талломов (данные не опубликованы). Таким образом, изменения наномеханических показателей талломов *C. islandica* при меланизации подтверждают изменение топографии меланизированных талломов лишайника на наноуровне.

Можно полагать, что такие значительные изменения морфологии и топографии таллома оказывают влияние на физиолого-биохимическое состояние лишайника. Данное предположение подтвердилось данными об антиоксидантной и дыхательной активности. Было показано, что меланизация сопровождается повышением антиоксидантной активности таллома, о чем свидетельствует эффективная деградация экзогенной H_2O_2 меланизированными талломами *C. islandica*. Эти данные подтверждают продемонстрированную нами ранее высокую антиоксидантную активность меланина, экстрагированного из *C. islandica* [27]. Меланизация талломов лишайников может снижать эффективность основного цитохром-зависимого пути дыхания. При сравнительном анализе интенсивности дыхания бледных и меланизированных талломов *C. islandica* выявлено значительное снижение общей дыхательной активности у пигментированных талломов (рис. 4). Это может быть обусловлено изменением под действием меланина физико-химических свойств клеточной поверхности талломов, а также следствием полупроводниковой природы меланина [32] и перераспределением потока электронов, приводящего к снижению эффективности энергопроизводящих метаболических путей. Снижение дыхательной активности может свидетельствовать о снижении метаболической активности микробонта в меланизированном талломе. Известно, что в свободноживущих грибах содержание меланина отрицательно коррелирует с ростом биомассы гиф [33]. Эти данные подтверждают гипотезу о существовании “физиологического компромисса” между биосинтезом меланина и клеточным метаболизмом [33].

Таким образом, полученные нами результаты расширяют представление о барьерной функции меланинового слоя верхнего кортекса талломов лишайников. Изменения в микроструктуре и топографии верхнего кортекса и последующие изменения физиолого-биохимического состояния таллома при меланизации свидетельствуют о разнообразии меланин-опо-

средованных механизмов защиты лишайника *C. islandica* от интенсивного проникновения и токсического действия интенсивной солнечной радиации.

Работа выполнена в рамках государственного задания Федерального исследовательского центра Казанского научного центра Российской академии наук, а также при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 23-14-00327 (для А.Д. и Ф.М., анализ морфологии и топографии меланизированных талломов).

Настоящая статья не содержит результатов экспериментов с участием людей и животных в качестве объектов исследований.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Eisenreich W., Knispel N., Beck A. Advanced methods for the study of the chemistry and the metabolism of lichens // *Phytochem. Rev.* 2011. V. 10. P. 445. <https://doi.org/10.1007/s11101-011-9215-3>
2. Armstrong R.A. Adaptation of lichens to extreme conditions. In: eds. Shukla V., Kumar S., Kumar N. Plant adaptation strategies in changing environment. Singapore: Springer. 2017. P. 27. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6744-0_1
3. Dadachova E., Bryan R.A., Howell R.C., Schweitzer A.D., Aisen P., Nosanchuk J.D., Casadevall A. The radioprotective properties of fungal melanin are a function of its chemical composition, stable radical presence and spatial arrangement // *Pigm. Cell Melanoma Res.* 2008. V. 21. P. 192. <https://doi.org/10.1111/j.1755-148X.2007.00430.x>
4. Huijser A., Pezzella A., Sundström V. Functionality of epidermal melanin pigments: current knowledge on UV-dissipative mechanisms and research perspectives // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2011. V. 13. P. 9119. <https://doi.org/10.1039/C1CP20131J>
5. Schweitzer A.D., Revskaya E., Chu P., Pazo V., Friedman M., Nosanchuk J.D., Cahill S., Frases S., Casadevall A., Dadachova E. Melanin-covered nanoparticles for protection of bone marrow during radiation therapy of cancer // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2010. V. 78. P. 1494. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2010.02.020>
6. Solhaug K.A., Gauslaa Y., Nybakken L., Bilger W. UV-induction of sun-screening pigments in lichens // *New Phytol.* 2003. V. 158. P. 91. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00708.x>
7. Daminova A.G., Rogov A.M., Rassabina A.E., Beckett R.P., Minibayeva F.V. Effect of melanization on thallus microstructure in the lichen *Lobaria pulmonaria* // *J. Fungi.* 2022. V. 8. P. 791. <https://doi.org/10.3390/jof8080791>
8. Daminova A.G., Rassabina A.E., Khabibrakhmanova V.R., Beckett R.P., Minibayeva F.V. Topography of UV-melanized thalli of *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. // *Plants.* 2023. V. 12. P. 2627. <https://doi.org/10.3390/plants12142627>
9. Honegger R., Haisch A. Immunocytochemical location of the (1→3) (1→4)-β-glucan lichenin in the lichen-forming ascomycete *Cetraria islandica* (Icelandic moss) // *New Phytol.* 2001. V. 150. P. 739. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2001.00122.x>
10. Nybakken L., Solhaug K.A., Bilger W., Gauslaa Y. The lichens *Xanthoria elegans* and *Cetraria islandica* maintain a high protection against UV-B radiation in Arctic habitats // *Oecologia.* 2004. V. 140. P. 211. <https://doi.org/10.1007/s00442-004-1583-6>
11. Solhaug K.A., Eiterjord G., Løken M.H., Gauslaa Y. Non-photochemical quenching may contribute to the dominance of the pale mat-forming lichen *Cladonia stellaris* over the sympatric melanic *Cetraria islandica* // *Oecologia.* 2024. V. 204. P. 187.
12. Youngchim S., Nosanchuk J.D., Pornsuwan S., Kajiwar S., Vanittanakom N. The role of L-DOPA on melanization and mycelial production in *Malassezia furfur* // *PLoS One.* 2013. V. 8. P. 1. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063764>
13. Rejniak J. New method of melanin staining in histological preparations // *Pathol. Pol.* 1956. V. 7. P. 101.
14. Lillie R.D. A Nile blue staining technic for the differentiation of melanin and lipofuscins // *Stain Technol.* 1956. V. 31. P. 151.
15. Викторова Л.В., Галеева Е.И., Минибаева Ф.В. Лакказы и тирозиназы в талломах лишайника *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. // *Экобиотех.* 2020. Т. 3. С. 220. <https://doi.org/10.31163/2618-964X-2020-3-2-220-228>
16. Bellincampi D., Dipperro N., Salvi G., Gervone F., De Lorenzo G. Extracellular H₂O₂ induced by oligogalacturonides is not involved in the inhibition of the auxin-regulated rolB gene expression in tobacco leaf explants // *Plant Physiol.* 2000. V. 122. P. 1379. <https://doi.org/10.1104/pp.122.4.1379>
17. 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. Изменение липидного состава лишайника *Peltigera canina* при действии повышенной температуры // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология.* 2023. Т. 3. С. 532. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-4-532-544>
18. Słominski A., Moellmann G., Kuklinska E., Bomirski A., Pawelek J. Positive regulation of melanin pigmentation by two key substrates of the melanogenic pathway, L-tyrosine and L-dopa // *J. Cell Sci.* 1988. V. 89. P. 287. <https://doi.org/10.1242/jcs.89.3.287>
19. Nash T.H. Lichen Biology. 2nd Edition, Cambridge: Cambridge University Press. 2008. 502 p. <http://dx.doi.org/10.1017/CBO9780511790478>

20. Butler M.J., Day A.W. Fungal melanins: A review // Can. J. Microbiol. 1998. V. 44. P. 1115.
<https://doi.org/10.1139/w98-119>
21. Jacobson E.S. Pathogenic roles for fungal melanins // Clin. Microbiol. Rev. 2000. V. 13. P. 708.
<https://doi.org/10.1128/cmr.13.4.708>
22. Pacelli C., Bryan R.A., Onofri S., Selbmann L., Zucconi L., Shuryak I., Dadachova E. The effect of protracted X-ray exposure on cell survival and metabolic activity of fast and slow growing fungi capable of melanogenesis // Environ. Microbiol. Rep. 2018. V. 10. P. 255.
<https://doi.org/10.1111/1758-2229.12632>
23. Pavan M.E., López N.I., Pettinari M.J. Melanin biosynthesis in bacteria, regulation and production perspectives // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2020. V. 104. P. 1357.
<https://doi.org/10.1007/s00253-019-10245-y>
24. Choi K.-Y. Bioprocess of microbial melanin production and isolation // Front. Bioeng. Biotechnol. 2021. V. 9. P. 1.
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.765110>
25. Raposo G., Marks M.S. Melanosomes – dark organelles enlighten endosomal membrane transport // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2007. V. 8. P. 786.
<https://doi.org/10.1038/nrm2258>
26. Yoshikawa-Murakami C., Mizutani Y., Ryu A., Naru E., Teramura T., Homma Y., Fukuda M. A novel method for visualizing melanosome and melanin distribution in human skin tissues // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21. P. 8514.
<https://doi.org/10.3390/ijms21228514>
27. Рассабина А.Е., Гурьянов О.П., Бекетт Р.П., Минибаева Ф.В. Меланин лишайников *Cetraria islandica* и *Pseudevernia furfuracea*: особенности строения и физико-химические свойства // Биохимия. 2020. Т. 85. С. 729.
28. Rassabina A.E., Khabibrakhmanova V.R., Babaev V.M., Daminova A.G., Minibayeva F.V. Melanins from the lichens *Lobaria pulmonaria* and *Lobaria retigera* as ecofriendly adsorbents of synthetic dyes // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23. P. 15605.
<https://doi.org/10.3390/ijms232415605>
29. Хабибрахманова В.Р., Рассабина А.Е., Хайруллина А.Ф., Минибаева Ф.В. Физико-химические характеристики и антиоксидантные свойства меланинов, выделенных из лишайника *Leptogium furfuraceum* (Harm.) // Химия растительного сырья. 2022. Т. 4. С. 115.
30. Gauslaa Y., Alam M.A., Lucas P.L., Chowdhury D.P., Solhaug K.A. Fungal tissue per se is stronger as a UV-B screen than secondary fungal extrolites in *Lobaria pulmonaria* // Fungal Ecol. 2017. V. 26. P. 109.
<https://doi.org/10.1016/j.funeco.2017.01.005>
31. Mafole T.C., Solhaug K.A., Minibayeva F.V., Beckett R.P. Occurrence and possible roles of melanic pigments in lichenized ascomycetes // Fungal Biol. Rev. 2019. V. 33. P. 159.
<https://doi.org/10.1016/j.fbr.2018.10.002>
32. Mostert A.B., Powell B.J., Pratt F.L., Hanson G.R., Sarana T., Gentle I.R., Meredith P. Role of semiconductivity and ion transport in the electrical conduction of melanin // PNAS. 2012. V. 109. P. 8943.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1119948109>
33. Siletti C.E., Zeiner C.A., Bhatnagar J.M. Distributions of fungal melanin across species and soils // Soil Biol. Biochem. 2017. V. 113. P. 285.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.05.030>