



УДК 574.5; 595.36; 577.2

Может ли повышенное содержание растворённых гуминовых веществ в водоёмах ограничивать распространение эндемичных видов за пределы озера Байкал?

М. В. Протопопова¹, В. В. Павличенко¹, Т. Люкенбах²

¹ Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск

² Центр экологических исследований им. Гельмгольца, Лейпциг

E-mail: marina.v.protopopova@gmail.com

Аннотация. Исследование посвящено обсуждению вопроса возможных причин относительной несмешиваемости байкальской и палеарктической фаун в ключе реакции организмов на повышенное содержание гуминовых веществ в среде обитания. Содержание гуминовых веществ в толще воды и в донных осадках Байкала гораздо ниже, чем в большинстве окружающих его палеарктических водоёмов. Как было неоднократно показано, несмотря на то что гуминовые вещества являются естественным компонентом водных экосистем, они способны индуцировать стресс-ответ у организмов. Однако мы обнаружили, что реакция эндемичных байкальских амфипод на воздействие повышенных количеств гуминовых веществ отличается от таковой у общераспространённых палеарктических видов. В то время как палеарктические амфиподы показали усиление экспрессии генов стрессовых белков в результате воздействия гуминовых веществ, у байкальских видов происходило снижение содержания соответствующих транскриптов. Мы полагаем, что негативная регуляция генов стрессовых белков в результате воздействия гуминовых веществ может приводить к тому, что байкальские виды становятся более восприимчивыми к дополнительным стрессовым воздействиям. Соответственно, они в меньшей степени способны выживать в воде с высоким содержанием гуминовых веществ, чем общераспространённые палеарктические виды.

Ключевые слова: Байкал, эндемики, амфиподы, гуминовые вещества, стресс-ответ, стрессовые белки, транспортёры ксенобиотиков.

Озеро Байкал представляет собой уникальную древнюю экосистему, особенностью которой являются крайне высокие биологическое разнообразие и степень эндемизма видового состава. Особый интерес в изучении экосистемы озера представляет явление относительной несмешиваемости уникальной байкальской и палеарктической фаун [1; 6; 8]. Причины несмешиваемости, по-видимому, нужно искать в том числе в различных абиотических условиях водоёмов. Например, одним из таких факторов является содержание растворённого органического углерода в воде. Байкал

относится к озёрам олиготрофного типа с низким содержанием органического вещества как в толще воды, так и в донных отложениях [4; 5; 10].

Воды других палеарктических водоёмов обычно имеют более высокое содержание биогенов и органического углерода. Одной из основных фракций растворённого органического углерода в водоёмах является комплекс гуминовых веществ [11]. Несмотря на то что гуминовые вещества являются постоянным естественным компонентом водных экосистем, в ряде работ было показано, что они могут оказывать негативный эффект на живые организмы, сходный с действием ксенобиотиков, индуцируя клеточный стресс-ответ [7; 9]. Так, неоднократно показано, что гуминовые вещества способны индуцировать окислительный стресс в организмах в результате стимуляции образования свободных форм кислорода [3; 12]. Наша гипотеза состояла в том, что различия в стрессовом ответе организмов на воздействие гуминовых веществ могут являться одной из причин, определяющих относительную несмешиваемость байкальской и палеарктической фаун.

Мы провели сравнительную оценку эффективности функционирования стрессовых систем, ассоциированных с белками теплового шока семейства БТШ70 и белка-транспортёра ксенобиотиков Р-гликопротеина, у байкальских и палеарктических амфипод. Вылов байкальских видов (*Eulimnogammarus cyaneus*, *E. verrucosus*, *E. vittatus*) осуществляли в прибрежной зоне южной котловины оз. Байкал в районе пос. Бол. Коты (N51°54'11.67", E105°4'7.61"), палеарктического *Gammarus lacustris* – в небольшом озере близ пос. Бол. Коты (N51°55'14.39", 105°4'19.48"). Амфипод контрольной группы содержали в чистой байкальской воде при температуре +7 °С, амфипод экспериментальной группы содержали в растворах гуминовых веществ с концентрацией общего органического углерода 10 мг/л при аналогичных температурных условиях. В качестве источника гуминовых веществ использовали синтетический препарат HS-1500 (Германия). Выбранная для исследования концентрация гуминовых веществ превышала таковую в воде Байкала из точки сбора амфипод приблизительно в 7 раз, а в водоёме, где проводили сбор *G. lacustris*, приблизительно в 3 раза. Выбор использовавшейся концентрации препарата обусловлен соответствием этого значения содержанию гуминовых веществ, встречающемуся во многих окружающих Байкал пресноводных водоёмах.

С использованием методов количественного ПЦР в реальном времени (кПЦР) и Вестерн-блоттинга нами показано, что экспозиция амфипод в растворах гуминовых веществ вызывает разнонаправленные реакции БТШ70 и Р-гликопротеина на транскрипционном и трансляционном уровнях у байкальских и палеарктических амфипод [2]. Так, анализ конститутивных уровней транскриптов показал, что убиквист *G. lacustris* обладает более высоким базовым содержанием транскриптов БТШ70 и Р-гликопротеина, чем байкальские эндемики. Среди байкальских видов наибольший базовый уровень транскриптов выявлен у *E. cyaneus*, обитающего в наиболее вариабельных условиях верхней литорали озера [2]. Этот же вид показал наивысший базальный уровень белков БТШ70 среди всех

исследованных видов. Экспозиция амфипод в растворах с высоким содержанием гуминовых веществ вызывала усиление экспрессии генов белков БТШ70 и Р-гликопротеина у палеарктического вида и снижение относительно контрольного уровня у байкальских видов [2]. Содержание белков БТШ70 также возрастало только у палеарктического вида и оставалось в пределах контрольного диапазона у всех байкальских видов [2]. Несмотря на стабильный уровень стрессовых белков, снижение уровня их транскриптов у байкальских амфипод, вероятно, не способно обеспечить в необходимой мере эффективную стресс-реакцию в условиях с высоким содержанием гуминовых веществ (что характерно для многих водоёмов Палеарктики) при внесении в среду дополнительного стрессового агента, например повышенной температуры. В отличие от байкальских видов *G. lacustris*, вероятно, способен к более пластичному стресс-ответу на воздействие гуминовых веществ, а наличие высокоёмкого «буфера» транскриптов стрессовых белков, по-видимому, обеспечивает модуляцию быстрой и эффективной стресс-реакции в ответ на воздействие негативных факторов внешней среды. Выявленные различия в функционировании стрессовых систем позволяют предположить, что в условиях с высоким содержанием гуминовых веществ адаптивная способность байкальских эндемичных видов амфипод ниже, чем общераспространённых палеарктических, что может частично определять их ограниченное распространение за пределы Байкала.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (проекты 14-04-31350 мол_а и 14-04-31681 мол_а), Министерства образования и науки РФ (соглашение № 8266), совместной программы Министерства образования и науки РФ и Германской службы академических обменов (DAAD) «Михаил Ломоносов II», международной программы DAAD для молодых учёных, программ международного консорциума «Эразмус Мундус». Авторы благодарят руководство и сотрудников Байкальского аналитического центра (ЦКП) СО РАН при Президиуме ИИЦ СО РАН за предоставленную возможность использования необходимого для исследований оборудования.

Список литературы

1. Мазепова Г. Ф. Ракушковые рачки (Ostracoda) Байкала / Г. Ф. Мазепова. – Новосибирск : Наука, 1990. – 472 с.
2. Contrasting cellular stress responses of Baikalian and Palearctic amphipods upon exposure to humic substances: environmental implications / M. V. Protopopova [et al.] // Environmental Science and Pollution Research. – 2014. – Vol. 21, N 24. – P. 14124–14137.
3. Cooper W. J. Sunlight-induced photochemistry of humic substances in natural waters: Major reactive species / W. J. Cooper // Aquatic humic substances: Influence on fate and treatment of pollutants / Eds. R. G. Zika, R. G. Petasne, A. M. Fischer. – Washington : American Chemical Society, 1989. – P. 333–362.
4. Distribution of dissolved organic carbon in Lake Baikal and its watershed / T. Yoshioka [et al.] // Limnology. – 2002. – Vol. 3, N 3. – P. 159–168.

5. Nutritional diagnosis of phytoplankton in Lake Baikal / M. Genkai-Kato [et al.] // *Ecological Research*. – 2002. – Vol. 17, N 2. – P. 135–142.
6. Kozhova O. M. Lake Baikal: Evolution and Biodiversity / O. M. Kozhova, L. R. Izmestyeva. – Leiden : Backhuys Publishers, 1998. – 447 p.
7. The nematode *Caenorhabditis elegans*, stress and aging: Identifying the complex interplay of genetic pathways following the treatment with humic substances / R. Menzel [et al.] // *Front. Gen.* – 2012. – Vol. 3, article 50. – P. 1–15.
8. Snimschikova L. N. Oligochaete fauna of Lake Baikal / L. N. Snimschikova, T. W. Akinshina // *Hydrobiologia*. – 1994. – Vol. 278. – P. 27–34.
9. Pure humic substances have the potential to act as xenobiotic chemicals – a review / C. E. W. Steinberg [et al.] // *Fresenius Environ. Bull.* – 2003. – Vol. 12. – P. 391–401.
10. Watanabe T. Radiocarbon dating of sediments from large continental lakes (Lakes Baikal, Hovsgol and Erhel) / T. Watanabe, T. Nakamura, T. Kawai // *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. – 2007. – Vol. 259, N 1. – P. 565–570.
11. Wetzel R. G. Limnology. Lake and River Ecosystems / R. G. Wetzel. – San Diego : Academic Press, 2001. – 1006 p.
12. Singlet oxygen in natural waters / R. G. Zepp [et al.] // *Nature*. – 1977. – Vol. 267. – P. 421–423.

Do Humic Substances in Water Bodies outside Lake Baikal Prevent the Expansion of Endemic Baikalian Species?

M. V. Protopopova¹, V. V. Pavlichenko¹, T. Luckenbach²

¹ *Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk*

² *UFZ-Helmholtz Centre for Environmental Research, Leipzig*

Abstract. We are discussing here the question why the Baikalian endemic and the typical Palaearctic faunas do not intermix in light of differences between species of those faunas regarding their abilities to deal with humic substances (HS) in the water. Water of Lake Baikal contains less humic substances than adjacent water bodies. HS cause stress in aquatic organisms generally resulting in an upregulation of cellular stress response systems. However, we found that amphipods endemic to Lake Baikal respond differently to HS in the water than a non-Baikal amphipod species. Whereas this species showed upregulation of stress-response related genes upon HS exposure transcript levels of those genes were lowered in Baikalian endemic amphipods. We see it as conceivable that as a consequence of down-regulation of stress-response related genes by HS those species are more susceptible to other stressors and therefore less able to survive in waters with high HS content.

Keywords: Lake Baikal, endemics, amphipods, humic substances, stress-response, stress-proteins, xenobiotic transporters.

Протопопова Марина Владимировна
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132

Protopopova Marina Vladimirovna
Candidate of Science (Biology),
Senior Research Scientist
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS
132, Lermontov st., Irkutsk, 664033

тел.: (3952) 42-46-59
факс: (3952) 51-07-54
e-mail: marina.v.protopopova@gmail.com

tel.: (3952) 42-46-59
fax: (3952) 51-07-54
e-mail: marina.v.protopopova@gmail.com

Павличенко Василий Валерьевич
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132
тел.: (3952) 42-46-59
факс (3952) 51-07-54
e-mail: vpavlichenko@gmail.com

Pavlichenko Vasily Valeryevich
Candidate of Science (Biology),
Senior Research Scientist
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS
132, Lermontov st., Irkutsk, 664033,
tel.: (3952) 42-46-59
fax: (3952) 51-07-54
e-mail: vpavlichenko@gmail.com

Люкенбах Тиль
кандидат наук, научный сотрудник
Центр экологических исследований им.
Гельмгольца
D-04318, г. Лейпциг,
ул. Пермосеритрассе, 15
тел: +49 (341) 235-15-14
e-mail: till.luckenbach@ufz.de

Luckenbach Till
PhD, Research Scientist
UFZ-Helmholtz Centre for Environmental
Research
Permoserstraße 15, D-04318 Leipzig,
Germany
tel: +49 (341) 235-15-14
e-mail: till.luckenbach@ufz.de