

Серия «Биология. Экология» 2011. Т. 4, № 4. С. 46–52

Онлайн-доступ к журналу: http://isu.ru/izvestia

ИЗВЕСТИЯ Иркутского государственного университета

УДК 579.84:597.552.51(282.256.341)

Высокочувствительная детекция возбудителей бактериального язвенного синдрома байкальского омуля *Coregonus migratorius* (Georgi, 1775)

Е. В. Дзюба 1 , Н. Н. Деникина 1 , Е. В. Суханова 1 , М. П. Белых 2,1 , И. В. Ханаев 1 , Н. М. Пронин 3 , Н. Л. Белькова 1,2

E-mail: e dzuba@lin.irk.ru

Аннотация. Апробированы высокочувствительные методы детекции возбудителей бактериального язвенного синдрома байкальского омуля. В обширных язвенных поражениях внешних покровов байкальского омуля детектированы микроорганизмы филы Цитофаги-Флавобактерии, рода Aeromonas, а также паразитический гриб Saprolegnia ferax. Предполагается, что важнейшими экологическими факторами, определяющими эпизоотическую ситуацию в популяции омуля, являются физиологическое состояние рыб после длительного подлёдного периода с низкой интенсивностью питания, температура воды и плотность стада в период нагула. Обсуждается необходимость проведения микробиологического и паразитологического мониторинга как составляющей части контроля состояния здоровья важнейших видов гидробионтов в озере Байкал.

Ключевые слова: байкальский омуль, бактериальный язвенный синдром, молекулярно-генетические методы, миксинфекция, *Aeromonas, Flavobacterium, Saprolegnia ferax*.

Введение

Определение таксономического состава и функциональной значимости различных микроорганизмов, в том числе патогенных, и изучение факторов, влияющих на их вирулентность, являются приоритетными направлениями в исследованиях микробиоты рыб и других гидробионтов.

Микроорганизмы, вызывающие язвенные поражения внешних покровов рыб, широко распространены в различных водных экосистемах. Проявления их патогенности связаны с изменениями ряда параметров среды обитания и характеристик состояния рыбного населения. В связи с этим определение ключевых индикаторных видов патогенных агентов в конкретных водоёмах и разработка современных методов их детекции являются актуальной и важной задачей.

Ввиду комплексной этиологии заболеваний внешних покровов рыб проведение идентификации микроорганизмов связано с рядом трудностей: возбудители инфекций часто относятся к нормальной микрофлоре водных сообществ и патогенные виды могут успешно «маскироваться» сапрофитными формами того же или

близкого по физиолого-биохимическим свойствам рода [18]; патогенные бактерии способны переходить в некультивируемое, но жизнеспособное состояние, сохраняя при этом свою вирулентность [10]; для культивирования некоторых микроорганизмов требуется длительное время, что затрудняет или делает невозможным своевременную организацию санитарнопрофилактических мероприятий. Множество современных сравнительных исследований посвящены оценке возможности использования молекулярно-генетических методов на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) для детекции и идентификации возбудителей инфекций [14; 18]. Прямой анализ маркерных фрагментов геномов позволяет избегать проблем культивирования и неспецифической детекции, а также эффективно и быстро выявлять целевые группы микроорганизмов в пробах биологического материала.

Байкальский омуль Coregonus migratorius (Georgi, 1775) считается достаточно хорошо изученным видом; постоянное внимание к его биологии определяется его экологической (ключевой вид в экосистеме) и экономической (основной промысловый вид оз. Байкал) значимостью. Известно, что язвенные поврежде-

 $^{^{1}}$ Лимнологический институт СО РАН, Иркутск

² Иркутский государственный университет, Иркутск

³ Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ

ния внешних покровов байкальского омуля могут быть вызваны травмами, особенно в садках рыболовных заводов, и последующими поражениями грибами рода *Saprolegnia* и миксоспоридией *Henneguya zschokkei* — возбудителем «бугорковой болезни» сиговых рыб [13].

Цель настоящей работы заключается в отработке методов высокочувствительной детекции возбудителей бактериального язвенного синдрома рыб на примере байкальского омуля.

Материалы и методы

При проведении гидроакустической съёмки по учёту ресурсов байкальского омуля в рамках интеграционного проекта СО РАН № 6 «Закономерности поведения байкальского омуля и гидроакустическая оценка динамики его популяций как ключевого промыслового вида» осуществлён мониторинг состояния его Работы проводились с НИС популяций. «Г. Ю. Верещагин» 25 мая – 15 июня 2011 г. по всей акватории оз. Байкал. В качестве орудия лова использовался разноглубинный трал. Проведены 20 контрольных тралений. Общему биологическому анализу согласно стандартной методике [8] подвергнуты 1234 экз. байкальского омуля.

В открытых районах озера рыб с симптомами заболевания не отмечено. В Баргузин-

ском заливе (53,4339° с. ш. и 108,6859° в. д.) 4 июня 2011 г. было выполнено траление на горизонте глубин 215-220 м при температуре воды на поверхности от 2,6 до 4,6 °C. В составе улова обнаружены 12 экземпляров рыб с кровоизлияниями у оснований плавников и один с обширными язвенными поражениями внешних покровов (рис. 1). Общая длина данного экземпляра байкальского омуля прибрежной морфоэкологической группы составила 288 мм, масса 207,04 г. Непосредственно после отлова в лабораторных условиях были взяты соскобы и образцы тканей с пораженных участков тела рыбы, суммарная ДНК из них выделена с использованием коммерческого набора ДНК-сорб В (ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва) согласно протоколу производителя. Дальнейший молекулярно-генетический анализ проводили согласно ранее адаптированным методикам [7]. Фрагменты гена 16S рРНК амплифицировали как с универсальными, так и с групп-специфичными праймерами [1; 7]. Для лигирования полученных ампликонов использовали набор GeneJET $^{\mathrm{TM}}$ PCR Cloning Kit (Fermentas, Литва). Компетентные клетки Escherichia coli (штамм XL-1) получали по методике трансформации CaCl₂-зависимых клеток.

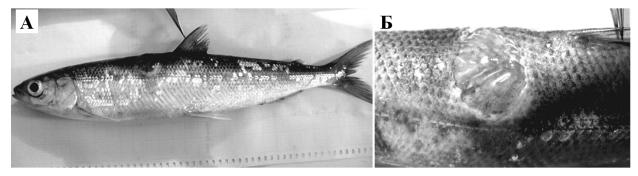


Рис. 1. Байкальский омуль из тралового улова (зал. Баргузинский, 04.06.2011 г.) с язвенными поражениями внешних покровов и оснований плавников (А); внешний вид язвы на теле возле спинного плавника (Б)

Секвенирование осуществляли на автоматическом секвенаторе ABI310A (ABI PRISM 310 Genetic Analyzer) в Новосибирском приборном центре коллективного пользования СО РАН. Сравнительный анализ полученных последовательностей проводили с помощью пакета программ FASTA [25]. Проверка полученных последовательностей на наличие химерных структур проведена с использованием программы Pintail [17].

Результаты и обсуждение

Доля рыб с признаками заболевания из траловой пробы в районе Баргузинского залива составила 4 % от числа рыб в улове. Результаты ПЦР суммарной ДНК, выделенной из изъязвленных тканей байкальского омуля, на универсальных и групп-специфичных праймерах показали присутствие в ней ДНК представителей филы Цитофаги-Флавобактерии и рода Aeromonas (рис. 2). Кроме того, молекулярно-

генетический анализ позволил определить в исследуемой ДНК последовательности фрагментов малой субъединицы рРНК митохондриального генома Saprolegnia ferax, несмотря на отсутствие внешних проявлений микоза. Микробиологический мониторинг водных объектов традиционно проводится классическими методами, в основе которых лежит культивирование на питательных средах. Ранее из воды и грунтов оз. Байкал были изолированы представители более двух десятков родов и сотен видов культивируемых гетеротрофных микроорганизмов, том числе Acinetobacter. В Aeromonas, Alcaligenes, Bacillus, Corinebacterium, Erwinia, Escherichia, Flavobacterium, Micrococcus, Nocardia, Planococcus, Pseudomonas,

Rhodotorula, Vibrio, Xanthomonas и Zoogloea [5], среди которых не отмечены аэромонады и флавобактерии, патогенные для гидробионтов. Исследование микробных сообществ глубинных вод открытого Байкала молекулярногенетическими методами позволило выявить большое разнообразие прокариот разных таксономических групп и присутствие гетеротрофных бактерий в периоды интенсивного перемешивания вод, при этом патогенных представителей также не детектировали [12]. По сравнению с участками открытого Байкала в зонах мелководных заливов и устьевых участках рек зарегистрированы высокие значения общей численности бактерий и культивируемых гетеротрофов [6].

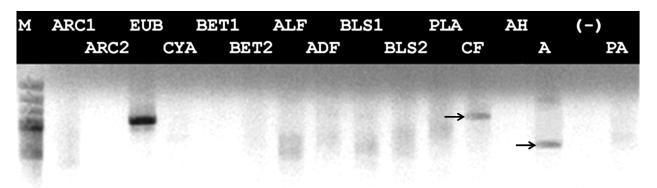


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов амплификации суммарной ДНК из соскоба язвы байкальского омуля на групп-специфичных праймерах. ARC1 и ARC2 – Археи (600 и 625 п.н.); EUB – универсальные на ген 16S рРНК (900 п.н.); СҮА – фила Цианобактерии (600 п.н.); BET1 и BET2 – класс Бета-протеобактерии (600 и 700 п.н.); ALF и ADF – классы Альфа- и Дельта-протеобактерии (500 и 1000 п.н.); BLS1 и BLS2 – фила Вирмикуты (1100 и 700 п.н.); PLA – фила Планктомицеты (600 п.н.); CF – фила Бактероидес (1050 п.н.); AH – Aeromonas hydrophila (686 п.н.); A – род Aeromonas (622 п.н.); PA – Pseudomonas anguilliseptica (439 п.н.). М – маркер молекулярного веса; (-) – отрицательный контроль. Стрелками указаны целевые ампликоны

Использованная в работе система праймеров, специфичных для группы Цитофаги-Флавобактерии, позволяет амплифицировать до 75 % известных представителей рода Flavobacterium класса Flavobacteria, среди которых известен целый спектр патогенных для рыб микроорганизмов (Flavobacterium psychrophilum, F. columnare, F. branchiophilum). Один из вышеперечисленных видов, F. psychrophilum (син.: Cytophaga psychrophila, Flexibacter psychrophilus) первоначально определён как типичный патоген, вызывающий язвы на теле и гниль плавников лососевых рыб при низких температурах (бактериальная холодноводная болезнь, англ. «visceral myxobacteriosis» и/или «bacterial cold water disease» (BCWD), «coldwater disease» (CWD) [16]). Инфицированные рыбы, как правило, имеют повреждения внешних покровов тела, разрушенные плавники и/или обширные эрозии хвостового плавника, приводящие к обнажению мышц и позвоночника [19]. Болезнь у рыб обычно возникает при температуре воды 4–10 °C [4]. Наиболее воспримичивы к заболеванию искусственно воспроизводимые виды рыб семейств Salmonidae (роды Salvelinus, Parasalmo и Salmo), Coregonidae, Сургіпіdae и Percidae [20]. Потенциальным резервуаром инфекции являются больные и мертвые рыбы, регистрируются горизонтальные и вертикальные пути её передачи [26].

Многие виды рода *Aeromonas* патогенны для позвоночных животных. Заболевания рыб, вызванные *Aeromonas* spp., в аквакультуре характеризуются высокой летальностью. Мезофильные аэромонады (*A. hydrophila*, *A. caviae* и *A. sobria*) чаще всего поражают тепловодных прудовых рыб. Септицемия, вызываемая подвижными аэромонадами (*A. hydrophila*

(= A. formicans и A. liquefaciens), A. hydrophila subsp. dhakenis, A. jandaei, A. bestiarum, A. veronii, A. sobria (A. sobria biovar sobria и А. veronii biovar sobria)), отмечена у многих видов пресноводных рыб [15]. В последнее время появились данные о развитии тяжёлых поражений кожи у Oncorhynchus mykiss, инфицированной Aeromonas spp. при температуре воды 4 °С, которые начинаются с появления локализованных депигментированных пятен, окружённых гиперемированными зонами, и приводят в итоге к потере чешуи, отторжению некротизированных тканей и образованию язв [24].

Вспышки язвенной болезни рыб неоднократно регистрировали в Чивыркуйском заливе оз. Байкал: периодические заболевания окуня *Perca fluviatilis*; гибель щуки *Esox lucius*, вызванная возбудителем аэромоноза (акт экспертизы Бурятской республиканской научнопроизводственной ветеринарной лаборатории №114—119 от 15.07.05). В бассейне Байкала (оз. Гусиное) гибель рыб (щуки, окуня и леща *Abramis brama*) от острой формы язвенной болезни отмечали в 1983—1984, 1990 и 2004 гг. Возникновение эпизоотий в ряде случаев обусловлено интродукцией рыб, контаминированных специфичными патогенами [3; 9].

Представители рода Saprolegnia parasitica, S. diclina, S. monoica и S. ferax) часто рассматриваются не как сапрофиты, а как паразиты различных видов пресноводных рыб [21]. Они являются наиболее важными патогенами. так как вызванные ими заболевания наносят серьезный экономический ущерб аквакультуре рыб, а также способствуют снижению численности диких популяций лососевых по всему миру [21]. Изоляты Saprolegnia из лососевых рыб растут и воспроизводятся при низких температурах воды [22]. Фактором, способствующим заболеванию, является снижение иммунитета рыб в результате травмы, различных форм стресса и общего эндокринного статуса, а развитие инфекции может сильно варьировать изза разницы в патогенности отдельных штаммов Saprolegnia [22].

Смешанные инфекции, вызванные вирусными, бактериальными, паразитарными возбудителями и *F. psychrophilum*, часто наблюдаются у различных видов рыб. *F. psychrophilum* часто встречается в сочетании с вирусом инфекционного гемопоэтического некроза (англ. «infectious hematopoietic necrosis virus») и грибами [23]. При проведении молекулярногенетической идентификации инфекционных агентов, ставших причиной массовой гибели

окуня из оз. Арахлей (Забайкальский край) в 2009 г. были детектированы генотипы бактерий родов *Flavobacterium* и *Aeromonas*, а также грибы рода *Saprolegnia*, подтверждена комплексная этиология заболевания [7].

Байкальский омуль - активно мигрирующий и сложноорганизованный в пространстве вид. Переход байкальского омуля от зимовки к весенне-летнему нагулу (миграции со склона в прибрежную зону и образование крупных скоплений с высокой плотностью) происходит при весеннем прогреве поверхностной воды до 4 °C и выше [2]. Эти особенности экологии в сочетании с физиологическим состоянием рыб после длительного подлёдного периода с низкой интенсивностью питания, высокой численностью гетеротрофов в устьевых и присклоновых зонах и оптимальной для развития возбудителей температурой воды, вероятно, могут являться факторами, способствующими возникновению и передаче инфекций внутри нагульных стад. Согласно данным молекулярногенетических исследований микрофлоры икры байкальского омуля в период инкубации было установлено наличие представителей рода Flavobacterium [11], что свидетельствует о возможности вертикального пути передачи инфекции, наряду с горизонтальной контаминацией в крупных скоплениях во время весенних миграций.

Заключение

С использованием высокочувствительных методов молекулярно-генетического анализа в язвенных поражениях внешних покровов байкальского омуля детектированы микроорганизмы филы Цитофаги-Флавобактерии, рода Aeromonas, а также паразитический гриб Saprolegnia ferax. Предложенный подход имеет ряд преимуществ: отсутствие длительных и трудоёмких стадий культивирования, одновременное выявление спектра патогенов и возможность ранней диагностики грибковых инфекций непосредственно в нативных образцах. Создание мультиплексной тест-системы комплексной диагностики основе молекулярнона биологического подхода становится все более актуальным для проведения микробиологического и паразитологического мониторинга искусственно воспроизводимых и естественных популяций байкальского омуля. Результаты таких исследований позволят контролировать состояние промыслового и нерестового стад байкальского омуля и своевременно корректировать планы интродукционных и рыбоводных

мероприятий с целью минимизации отрицательных последствий для популяций байкальского омуля и экосистемы оз. Байкал в целом.

Авторы выражают искреннюю благодарность сотрудникам лаборатории гидрологии и гидрофизики ЛИН СО РАН К. М. Кучеру и М. М. Макарову за предоставленные данные по температуре поверхностной воды и ценные консультации.

Работа выполнена при финансовой поддержке ГК № 16.512.11.2075 Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках Программы Президиума РАН «Биологическое разнообразие» проекты № 27.13 и P 23.10.

Литература

- 1. Биоразнообразие бактерий на различных глубинах южной котловины озера Байкал, выявленное по последовательностям 16S рРНК / Л. Я. Денисова [и др.] // Микробиология. 1999. Т. 68, № . С. 547–556.
- 2. Гидроакустический учёт ресурсов байкальского омуля / отв. ред.: В. И. Кудрявцев, Е. В. Дзюба // Справочники и определители по фауне и флоре озера Байкал. Новосибирск: Наука, 2009. 244 с.
- 3. Елизов В. И. Аэромоноз в регионе Байкала / В. И. Елизов // Биоразнообразие экосистем Внутренней Азии : материалы Всерос. конф. с междунар. участием. Улан-Удэ 5–10 сентября 2006 г. Улан-Удэ, 2006. Т. 2. С. 151–154.
- 4. Ихтиопатология: учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений / Н. А. Головина [и др.]. М.: Мир, 2003. 448 с.
- 5. Качество воды озера Байкал, проблемы и перспективы её использования / В. В. Парфенова [и др.] // Водоочистка. Водоподготовка. Водоснабжение. 2009. Т. 1. С. 48–54.
- 6. Микробиологический мониторинг мелководных участков озера Байкал / О. П. Дагурова [и др.] // Вест. Бурят. ун-та. Сер.: Биология. -2002. -№ 4. -C. 124-127.
- 7. Определение индикаторных микроорганизмов для мониторинга инфекционных заболеваний рыб на примере *Perca fluviatilis* (озеро Арахлей, Забайкальский край) / Е. В. Суханова [и др.] // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2010. Т. 12, № 1(4). С. 1153–1155.
- 8. Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных) / И. Ф. Правдин.– М.: Пищ. пром-сть, 1966. 376 с.
- 9. Пронин Н. М. Об экологических последствиях акклиматизационных работ в бассейне озера Байкал / Н. М. Пронин // Биологические ресурсы Забайкалья и их охрана. Улан-Удэ : Изд-во БФ СО АН СССР, 1982. С. 3–18.
- 10. Салина Е. Г. «Некультивируемые» формы бактерий *Mycobacterium smegmatis* и *Mycobacterium tuberculosis* и их биохимическая характеристика :

- автореф. дис. ... канд. биол. наук / Е. Г. Салина. М., 2006. 26 с.
- 11. Становление ассоциированной микрофлоры в онтогенезе байкальского омуля / Е. В. Суханова [и др.] // Пятая Междунар. Верещагин. Байк. конф.: материалы всерос. конф. с междунар. участием. Иркутск, 4—9 октября 2010 г. Иркутск: Иркут. обл. тип. № 1, 2010. С. 156.
- 12. Характеристика биоразнообразия микробного сообщества водной толщи озера Байкал / Н. Л. Белькова [и др.] // Микробиология. -2003. Т. 72, № 2. С. 239-249.
- 13. Экология, болезни и разведение байкальского омуля / Г. А. Афанасьев [и др.]; ред. А. Г. Егоров. Новосибирск : Наука, 1981. 232 с.
- 14. An RT PCR-DGGE survey of gill-associated bacteria in Norwegian seawater-reared Atlantic salmon suffering proliferative gill inflammation / T. Steinum [et al.] // Aquaculture. 2009. Vol. 293. P. 172–179
- 15. Austin B. Taxonomy of bacterial fish pathogens / B. Austin // Veterinary Research. 2011. Vol. 42. P. 20.
- 16. Baudin-Laurencin F. La myxobactéiose viscérale de la truite arc-en-ciel *Salmo gairdneri* R: Une forme nouvelle de la maladie de l'eau froide à *Cytophaga psychrophila* / F. Baudin-Laurencin // Acad. Vét. de France. 1989. Vol. 62. P. 147–157.
- 17. Bioinformatics Toolkit. Web-Pintail [Electronic resource]. URL: http://www.bioinformaticstoolkit.org/Pintail/index.html
- 18. Diagnosis of flavobacteriosis by direct amplification of rRNA genes / M. Tiirola [et al.] // Dis. Aquat. Organ. 2002. Vol. 51, N 2. P. 93–100.
- 19. Fish Histology and Histopathology Manual / S. Mumford [et al.] // USFWS-NCTC. 2007. 357 p.
- 20. Lonnstrom L.-G. *Flavobacterium psychrophilum* associated with mortality of farmed perch, *Perca fluviatilis* L. / L.-G. Lonnstrom, M. L. Hoffren, T. Wiklund // J. Fish Dis. 2008. Vol. 31. P. 793–797.
- 21. New insights into animal pathogenic oomycetes / A. J. Phillips [et al.] // Trends in Microbiol. 2007. Vol. 16, N 1. P. 13–19.
- 22. Noga E. J. Water mold infections of freshwater fish: recent advances / E. J. Noga // Annual Rev. of Fish Diseases. 1993. P. 291–304.
- 23. Protective immunity in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* following immunization with distinct molecular mass fractions isolated from *Flavobacterium psychrophilum* / B. R. La Frentz [et al.] // Dis. Aquat. Org. 2004. Vol. 59. P. 17–26.
- 24. Rehulka J. *Aeromonas* causes severe skin lesions in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): clinical pathology / J. Rehulka // Haematology and biochemistry. Acta Vet. Brno. 2002. Vol. 71. P. 351–360.
- 25. Sequence similarity searching. FASTA [Electronic resource]. URL:. http://www.ebi.ac.uk/Tools/sss/fasta
- 26. The Health Situation in Farmed Salmonids 2008 / R. Johansen [et al.] // Norwegian National Veterinary Institute, Oslo. 2009. 31 p.

High sensitivity detection of etiological agents of bacterial ulcerous syndrome of Baikalian omul *Coregonus migratorius* (Georgi, 1775)

 $E.\ V.\ Dzyuba^1,\ N.\ N.\ Denikina^1,\ E.\ V.\ Sukhanova^1,\ M.\ P.\ Belykh^{2,1},\ I.\ V.\ Khanaev^1,\ N.\ M.\ Pronin^3,\ N.\ L.\ Bel'kova^{1,2}$

Abstract. High sensitivity methods for detection of bacterial ulcerous syndrome of *Coregonus migratorius* were approved. Microorganisms of phyla Cytophaga-Flavobacteria, genus *Aeromonas*, as well as parasitic fungus *Saprolegnia ferax* were detected in extinctive ulcerous erosion of skin of *C. migratorius*. We proposed that the most important ecological factors those determined epizootic situation in population of *C. migratorius* were: fish physiology after long subglacial condition with low feeding intensity, water temperature, and high density of fish during growing period. Microbiological and parasitological monitoring as a part of control of healthiness of the main important hydrobionts of Lake Baikal was proposed.

Key words: *Coregonus migratorius*, bacterial ulcerous syndrome, molecular-genetic methods, mixed infection, *Aeromonas, Flavobacterium, Saprolegnia ferax*.

Дзюба Елена Владимировна
Лимнологический институт СО РАН
664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3
кандидат биологических наук,
и. о. заведующего лабораторией
тел. (3952)42–26–95, факс (3952)42–54–05
E-mail: e dzuba@lin.irk.ru

Деникина Наталья Николаевна Лимнологический институт СО РАН 664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3 кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник тел. (3952)42–84–22, факс (3952)42–54–05 E-mail: denikina@lin.irk.ru

Суханова Елена Викторовна Лимнологический институт СО РАН 664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3 научный сотрудник тел. (3952)42–54–15, факс (3952)42–54–05 E-mail: sukhanova@lin.irk.ru

Белых Марина Петровна Иркутский государственный университет 664003 г. Иркутск, ул. Сухэ-Батора, 5 студент тел. (факс) (395 2) 24—18—55 E-mail: maryline606@mail.ru

Ханаев Игорь Вениаминович Лимнологический институт СО РАН 664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3 старший научный сотрудник тел. (3952)42–26–95, факс (3952)42–54–05 E-mail: igkhan@lin.irk.ru

Dzyuba Elena Vladimirovna Limnological Institute SB RAS 3 Ulan-Batorskaya St., Irkutsk, 664033 Ph. D. in Biology, Head of laboratory

phone: (3952)42–26–95, fax: (3952)42–54–05 E-mail: e dzuba@lin.irk.ru

Denikina Nataliya Nikolaevna Limnological Institute SB RAS 3 Ulan-Batorskaya St., Irkutsk, 664033 Ph.D. in Biology, ass. prof., senior research scientist phone: (3952)42–84–22, fax: (3952)42–54–05 E-mail: denikina@lin.irk.ru

Sukhanova Elena Viktorovna Limnological Institute SB RAS 3 Ulan-Batorskaya St., Irkutsk, 664033 research scientist phone: (3952)42–54–15, fax: (3952)42–54–05 E-mail: sukhanova@lin.irk.ru

Belykh Marina Petrovna Irkutsk State University 5 Sukhe-Bator St., Irkutsk, 664003 student phone (fax): (3952) 24–18–55 E-mail: maryline606@mail.ru

Khanaev Igor Veniaminovich Limnological Institute SB RAS 3 Ulan-Batorskaya St., Irkutsk, 664033 senior research scientist phone: (3952)42–26–95, fax: (3952)42–54–05

E-mail: igkhan@lin.irk.ru

¹ Limnological Institute SB RAS, Irkutsk

² Irkutsk State University, Irkutsk

³ Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude

Пронин Николай Мартемьянович Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН 670047, Улан-Удэ, Сахъяновой, 6 доктор биологических наук, заведующий лабораторией тел. (3012)43–42–29 E-mail: proninnm@yandex.ru

Белькова Наталья Леонидовна Лимнологический институт СО РАН 664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3 кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник тел. (3952)42–54–15, факс (3952)42–54–05 E-mail: belkova@lin.irk.ru

Pronin Nikolai Martemyanovich Institute of General and Experimental Biology SB RAS 6 Sakhyanova St., Ulan-Ude, 670047 D. Sc. in Biology, Head of laboratory

phone: (3012)43–42–29 E-mail: proninnm@yandex.ru

Bel'kova Nataliya Leonidovna Limnological Institute SB RAS 3 Ulan-Batorskaya St., Irkutsk, 664033 Ph.D. in Biology, ass. prof., senior research scientist phone: (3952)42–54–15, fax: (3952)42–54–05 E-mail: belkova@lin.irk.ru