

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК**



ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ВНУТРЕННИХ ВОД ИМ. И.Д. ПАПАНИНА РАН



ТРУДЫ ИБВВ РАН

ВЫПУСК 88(91)

2019

ОКТЯБРЬ – ДЕКАБРЬ

Выходит 4 раза в год

Борок
2019

**THE MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF THE RUSSIAN FEDERATION
THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES**



PAPANIN INSTITUTE FOR BIOLOGY OF INLAND WATERS RAS



TRANSACTIONS OF IBIW RAS

ISSUE 88(91)

2019

OCTOBER – DESEMBER

The Journal is published quarterly

Borok
2019

УДК 574(28)

ББК 28.081

T78

Труды Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН. – Борок : Институт биологии внутренних вод – 2019. – Вып. 88(91) – 82 с.

А. М. Андреева, А. А. Солдатов, Д. В. Тихоненков, Р. А. Запруднова, А. А. Морозов, Е. В. Кузнецова, Д. В. Косолапов, Г. В. Винокурова, Г. В. Шурганова

В очередном выпуске журнала представлены материалы, посвященные некоторым актуальным вопросам экологической биохимии и молекулярной генетики водных организмов. Обсуждаются перспективы приложений протеомики в области экологии и эволюции; теоретические аспекты адаптаций морских организмов к зонам острой гипоксии; роль эритроцитарного магния в дыхательных адаптациях пресноводных рыб в условиях стресса; вопросы происхождения фотосинтетических эукариот; проблемы поиска внутригенных дубликаций у диатомовых водорослей; и связь разнообразия бактерий с функционированием пресноводных экосистем.

Выпуск рассчитан на специалистов в области экологии, гидробиологии, биохимии, микробиологии и молекулярной генетики.

Рецензенты:

Комов В.Т., д.б.н. (ИБВВ РАН)
Поддубный С.А., д.б.н. (ИБВВ РАН)
Карабанов Д.П., к.б.н. (ИБВВ РАН)

Дзюбан А.Н., д.б.н. (ИБВВ РАН)
Белькова Н.Л., к.б.н. (ЛИН СО РАН)
Андреева А.М., д.б.н. (ИБВВ РАН)

Редакционная коллегия Трудов ИБВВ РАН:

С. А. Поддубный (гл. редактор), д.г.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия
А. В. Крылов (зам. гл. редактора), д.б.н., проф., ИБВВ РАН, Борок, Россия
А. А. Бобров, к.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия
Б. К. Габриелян, д.б.н., проф., НАН РА НЦ ЗГЭ, Ереван, Армения
И.Л. Голованова, д.б.н. ИБВВ РАН, Борок, Россия
Ю.В. Герасимов, д.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия
А. Н. Дзюбан, д.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия
Хай Доан Нё, д.ф., Институт океанографии, ВАНТ, Нячанг, Вьетнам

В. Т. Комов, д.б.н., проф., ИБВВ РАН, Борок, Россия
В. И. Лазарева, д.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия
Н. М. Минеева, д.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия
Лам Нгуен Нгок, д.ф., проф., Институт океанографии, ВАНТ, Нячанг, Вьетнам
А. А. Протасов, д.б.н., проф., ИГБ НАНУ, Киев, Украина
К. Робинсон, д.ф., EAWAG, Цюрих, Швейцария
В. П. Семенченко, д.б.н., чл.-кор. НПЦ НАН по биоресурсам, Минск, Беларусь

Ответственный редактор: **А.М. Андреева**

Ответственный секретарь **А. А. Сажнева**

Печатается по решению Ученого совета ИБВВ РАН.

Исследования проведены при финансовой поддержке государства в лице Минобрнауки России.

*Адрес редакции: 152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н,
Институт биологии внутренних вод РАН
тел./факс (48547) 2-48-09; e-mail: trud@ibiw.ru*

A. M. Andreeva, A. A. Soldatov, D. V. Tikhonenkov, R. A. Zaprudnova, A. A. Morozov, E. V. Kuznetsova, D. V. Kosolapov, G. V. Vinokurova, G. V. Shurganova

The regular issue of the journal presents materials on some topical issues of environmental biochemistry and molecular genetics of aquatic organisms. The prospects of proteomics applications in the field of ecology and evolution are discussed; theoretical aspects of adaptations of marine organisms to areas of acute hypoxia; the role of erythrocyte magnesium in the respiratory adaptations of freshwater fish under stress; questions of the origin of photosynthetic eukaryotes; problems of searching for intragenic duplications in diatoms; and the association of bacterial diversity with the functioning of freshwater ecosystems.

The issue is designed for specialists in the field of ecology, hydrobiology, biochemistry, microbiology and molecular genetics.

Reviewers:

Komov V.T., Doctor of Biology (IBIW RAS)
Poddubny S.A., Doctor of Biology (IBIW RAS)
Karabanov D.P., Ph.D. (IBIW RAS)

Dzyuban A.N., Doctor of Biology (IBIW RAS)
Belkova N.L., Ph.D. (LIN SB RAS)
Andreeva A.M., Doctor of Biology (IBIW RAS)

Editorial board of IBIW RAS Transactions:

S. A. Poddubny (editor), Dr. of geogr., IBIW RAS, Borok, Russia
A. V. Krylov (deputy editor), Dr. of biol., prof., IBIW RAS, Borok, Russia
A. A. Bobrov, PhD., IBIW RAS, Borok, Russia
Hai Doan Nhu, PhD., Institute of Oceanography, VAST, Nha Trang, Vietnam
A. N. Dzuban, Dr. of biol., IBIW RAS, Borok, Russia
B. K. Gabrielyan, Dr. of biol., prof., SC ZHE NAS RA, Yerevan, Armenia
I.L. Golovanova, Dr. of biol., prof., IBIW RAS, Borok, Russia

Yu. V. Gerasimov, Dr. of biol., IBIW RAS, Borok, Russia
V. T. Komov, Dr. of biol., prof., IBIW RAS, Borok, Russia
V. I. Lazareva, Dr. of biol., IBIW RAS, Borok, Russia
N. M. Mineeva, Dr. of biol., IBIW RAS, Borok, Russia
Lam Nguyen Ngoc, PhD., prof., Institute of Oceanography, VAST, Nha Trang, Vietnam
A. A. Protasov, Dr. of biol., prof., IHB NASU, Kiev, Ukraine
C. Robinson, PhD., EAWAG, Zurich, Switzerland
V. P. Semchenko, Dr. of biol., corr. member NASB, Minsk, Belar

Editor-in-chief of the volume **A. M. Andreeva**

Coordinating Editor **A. A. Sazhneva**

Published by the decision of IBIW RAS Academic council.

The research was carried out with the financial support of the state in the person of the Ministry of education and science of the Russian Federation.

*Editorial address: 152742. Borok, Yaroslavl region, Nekouz district,
Institute for Biology of Inland Waters, RAS
tel./fax (48547) 2-48-09; e-mail: trud@ibiw.ru*

СОДЕРЖАНИЕ

<i>А. М. Андреева</i> ПЕРСПЕКТИВЫ ПРОТЕОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ВОДНЫХ ОРГАНИЗМОВ	7
<i>А. А. Солдатов</i> ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ СУЩЕСТВОВАНИЯ МОРСКИХ ОРГАНИЗМОВ В ЗОНАХ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ	20
<i>Р. А. Запруднова</i> УЧАСТИЕ ЭРИТРОЦИТАРНОГО МАГНИЯ В СТРЕССОРНЫХ РЕАКЦИЯХ РЫБ	29
<i>Д. В. Тихоненков</i> ОТКРЫТИЕ НЕФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ХИЩНЫХ РОДСТВЕННИКОВ КРАСНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ ПРОЛИВАЕТ СВЕТ НА ПРОИСХОЖДЕНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ЭУКАРИОТ	41
<i>А. А. Морозов</i> ВНУТРИГЕННЫЕ ДУПЛИКАЦИИ У ДИАТОМОВЫХ ВОДОРОСЛЕЙ: ПОИСК И ВАЛИДАЦИЯ	50
<i>Kuznetsova E. V., Kosolapov D. B.</i> DIVERSITY OF BACTERIA AND ITS COMMUNICATION WITH FUNCTIONING OF FRESHWATER ECOSYSTEMS	58
<i>Г. В. Винокурова</i> ФИТОЭПИЛИТОН ПОГРАНИЧНЫХ ЗОН ТЕЛЕЦКОГО ОЗЕРА	65
ПАМЯТИ НАШИХ КОЛЛЕГ	
<i>А. М. Андреева</i> К ЮБИЛЕЮ ЛАБОРАТОРИИ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ ВОДНЫХ ОРГАНИЗМОВ.....	76
<i>Г. В. Шурганова</i> ПАМЯТИ ВЛАДИМИРА ВАСИЛЬЕВИЧА ЧЕРЕПЕННИКОВА – НАСТАВНИКА, УЧИТЕЛЯ, ДРУГА, ЕДИНОМЫШЛЕННИКА, СОРАТНИКА	78

CONTENTS

A. M. Andreeva

PROSPECTS OF PROTEOM RESEARCHES OF WATER ORGANIZMS	7
--	---

A. A. Soldatov

FUNCTIONAL ASPECTS OF EXISTENCE OF MARINE ORGANISMS IN ZONES OF ACUTE HYPOXIA	20
---	----

R. A. Zaprudnova

PARTICIPATION OF ERYTHROCYTE MAGNESIUM IN STRESS RESPONSES OF FISH	29
--	----

D. V. Tikhonenkov

DISCOVERY OF NON-PHOTOSYNTHETIC PREDATORY RELATIVES OF RED ALGAE SHEDS LIGHT ON THE ORIGIN OF PHOTOSYNTHETIC EUKARYOTES	41
---	----

A. A. Morozov

INTRAGENIC DUPLICATIONS IN DIATOM ALGAE: BIOINFORMATIC SEARCH AND EXPERIMENTAL VALIDATION	50
---	----

Kuznetsova E. V., Kosolapov D. B.

DIVERSITY OF BACTERIA AND ITS COMMUNICATION WITH FUNCTIONING OF FRESHWATER ECOSYSTEMS	58
---	----

G. V. Vinokurova

ALGAE OF LAKE TELETSKOYE ECOTONES	65
---	----

MEMORY OF OUR COLLEAGUES

A. M. Andreeva

ON THE ANNIVERSARY OF THE LABORATORY OF ECOLOGICAL BIOCHEMISTRY OF WATER ORGANISMS	76
--	----

G. V. Shurganova

IN MEMORY OF VLADIMIR VASILIEVICH CHEREPENNIKOV – MENTOR, TEACHER, FRIEND, PRINCIPAL, COMPANATOR	78
--	----

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРОТЕОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ВОДНЫХ ОРГАНИЗМОВ (ОБЗОР)

А.М. Андреева

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, aam@ibiw.ru*

В обзоре представлены сведения по одному из разделов молекулярной генетики – протеомике, ее целям и задачам, методическом аппарате, возрастающей роли в изучении природных экосистем. Обсуждаются проблемы (1) более низкой эффективности извлечения полезной информации при изучении экосистем на протеомном уровне по сравнению с геномным и способы ее преодоления; (2) особенности изучения протеомов пойкилотермных и гомойотермных организмов; (3) перспективы протеомного анализа модельных и немодельных объектов, а также (4) роль проекта “Протеом человека”, давшего стимул для развития протеомных исследований других групп организмов; заключительный раздел посвящен эволюционным приложениям протеомики. Приведенные примеры демонстрируют эффективность протеомных технологий в решении вопросов экологии и эволюции. Протеомика может быть как самостоятельным инструментом, так и дополнительным звеном в комплексном анализе экосистем и мощным стимулом для развития старых и рождения новых гипотез и теорий.

Ключевые слова: экологическая протеомика, водные организмы, эволюция.

DOI: 10.24411/0320-3557-2019-10023

Протеомика – наука о белках. Подобно геномике, транскриптомике и метаболомике, она является разделом молекулярной биологии, тесно связанным с биоинформатикой. В последние годы использование этих дисциплин, и, в их числе, протеомики, в изучении природных экосистем значительно возросло (Schneider, Riedel, 2010; Diz et al., 2012; Rhee et al., 2014; Martyniuk, Simmons, 2016; Revel et al., 2017; Liang et al., 2018; Volkova et al., 2018). Протеомика выделилась из биохимии как самостоятельный специализированный раздел с особым методическим аппаратом, включающим электрофорез, хроматографию и масс-спектрометрию MALDI-TOF. Она предлагает качественно новый уровень исследований белков на основе секвенированных геномов исследуемых организмов. Такая платформа из сиквенсов была подготовлена в ходе реализации проекта “Геном человека”, давшего стимул для секвенирования геномов разных групп организмов (Lander et al., 2001). Его логичным продолжением явилась программа “Протеом человека” (Archakov et al., 2007, 2019; Ponomarenko et al., 2016), под “прикрытием” которой были начаты исследования белков и протеомов не только человека, но и других организмов. В ходе работы по данным проектам создавалась и пополнялась база данных по структуре белков человека и их протеолитическим фрагментам, полученным в стандартных условиях. Наличие такой базы позволяет идентифицировать белки человека по величинам молекулярной массы M_r их протеолитических фрагментов, полученных в таких же условиях. Широкий перечень видов, вовлеченных в геномные и протеомные исследова-

ния, расширил возможности идентификации практически любого белка у любого вида с секвенированным геномом.

Целью протеомики является инвентаризация и идентификация всех белков, закодированных в геноме организма, ткани, клетки; а также белок-белковые взаимодействия, посттрансляционные модификации и др. (Prieto and Rivas, 2009; Archakov et al., 2019). Выполнение всех этих задач невозможно без революционной технологии MALDI. В настоящее время масс-спектрометрические исследования охватывают не только белки человека, но и белки объектов природных экосистем. Экологическая протеомика – это протеомика живых объектов экосистем, опирающаяся на базу данных по секвенированным геномам организмов. Помимо идентификации белков, задачи экологической протеомики сконцентрированы на вопросах взаимодействия белков между собой в ходе развития и адаптаций к среде, а также на вопросах эволюции белков и протеомов.

Учитывая, что геномная карта едина для всех клеток организма, а протеомы разных типов клеток/тканей организма различны и изменчивы, можно предположить, что генетическая информация на уровне протеома обширнее, чем на уровне генома. Но именно в силу более сложной организации протеома, его динамичности и нестабильности во времени, извлечение полезной информации при изучении экосистем на протеомном уровне оказывается пока менее эффективно по сравнению с геномным уровнем (Frenkel-Morgenstern et al., 2010; Lemos et al., 2010; Vandenkoornhuyse et al., 2010; Diz et al., 2012; Baer, Millar, 2016).

Представленная схема (рис. 1) сравнительной оценки эффективности анализа и обработки генетической информации экосистемы на уровне генома, транскриптома и протеома демонстрирует снижение эффективности извлечения полезной экологической информации на конечном, протеомном уровне. Это подтверждают сведения по наполнению баз данных NCBI по нуклеотидам и белкам, а также по сопоставлению числа исходных записей с опубликованными в PubMed NCBI материалами. Так, в 2017 году по разделу “экотоксикология рыб” количество записей по нуклеотидам (около 10^7) на порядок превышало таковое по белкам (Martyniuk, Simmons, 2016). В октябре 2019 года по разделу “геномика и

экология” число записей по нуклеотидам (1143306) почти в 1.5 раз превысило таковое по белкам. По разделу “протеомика и экология” число записей по белкам (602) было почти в пять раз меньше, чем число записей по нуклеотидам. Число публикаций в PubMed за 2019 год (октябрь) по разделу “геномика и экология” (21608) было в 18 раз выше, чем по разделу “протеомика и экология” (1171). Таким образом, сопоставление, с одной стороны, числа внесенных в DB NCBI записей и, с другой стороны, количества обработанной и формализованной в виде публикаций информации по нуклеотидам и белкам свидетельствует о снижении эффективности обработки данных на уровне протеома.

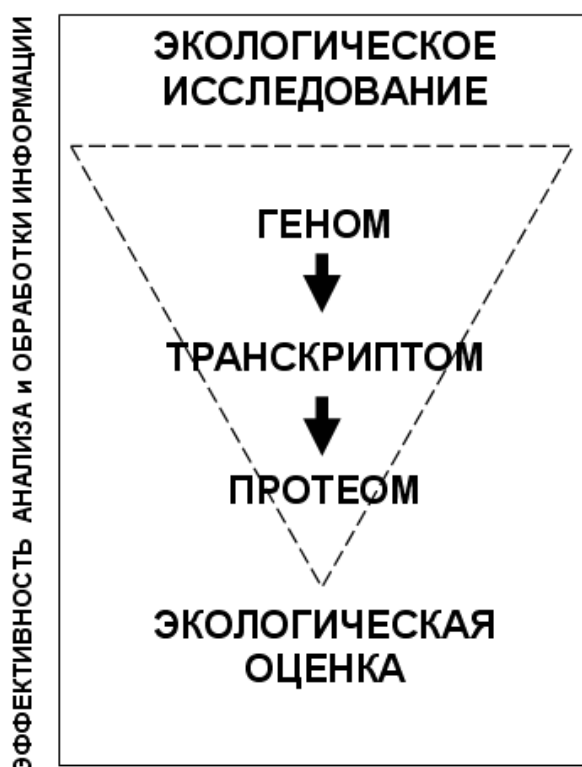
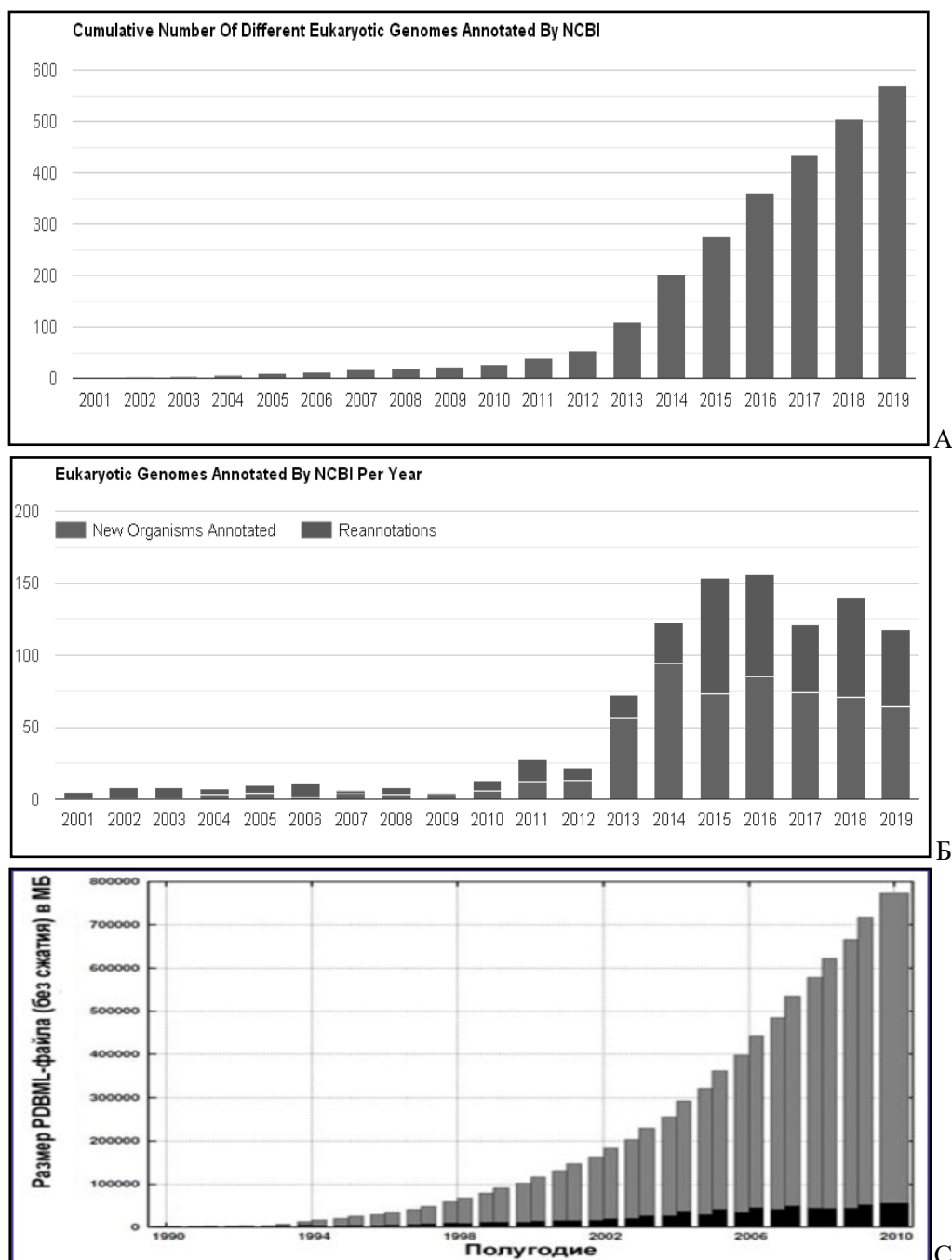


Рис.1. Эффективность извлечения полезной генетической информации при анализе экосистемы на разных омик-уровнях. Сужение пунктирной области на уровне протеома обозначает снижение эффективности извлечения “полезной” генетической информации при экологической валидации данных. (по Vandenkoornhuysen et al., 2010).

Fig.1. The effectiveness of useful genetic information extraction in the analysis of the ecosystem at different “omic” levels. The narrowing of the dotted line region at the proteome level means a decrease in the efficiency of extracting useful genetic information in environmental data validation (in accordance with Vandenkoornhuysen et al., 2010, with modifications).

Между тем, ситуация быстро меняется. Рост числа секвенированных геномов и высокие темпы аннотирования последовательностей готовят старт для наполнения банка данных Protein (Primmer et al., 2013). Скорость этого процесса сопоставима со скоростью ан-

нотирования геномов (Рис.2). На конец 2010 года общий размер несжатых данных в репозитории банка Protein составил более 750 ГБ по 177 категориям информации; а общее количество записей оценивалось около 70 тыс. (рис. 2С).



А

Б

С

Рис.2. Динамика аннотирования геномов эукариот с 2001 по 2019 гг. (А); соотношения аннотированных и ре-аннотированных в год геномов эукариот (Б) (под и над белой чертой соответственно); и наполнения банка данных Protein (С) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Fig. 2. Dynamics of annotation of eukaryotic genomes from 2001 to 2019 years (А); ratios of eukaryotic genomes, annotated and reannotated per year (Б) (under and over the white line, respectively); and filling the Protein bank data (С) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Между тем, на октябрь 2019 года только по одному поисковому слову “альбумин” в базе данных Proteins имелось более 30 тыс. записей. Высокие темпы наполняемости банка данных по белкам позволяют предположить,

1. Динамика протеомов пойкилотермных организмов

Основной поток генетической информации в клетке направлен от генов к РНК и далее к белкам. Это центральная догма молекулярной биологии. Но именно белки несут основ-

что в самое ближайшее время эффективность извлечения полезной экологической информации на уровне протеома экосистемы существенно возрастет.

ную ответственность за экспрессию определенного фенотипа. Протеом ближе к фенотипу (клетки, ткани, организма), чем геном или транскриптом, он формирует фенотип и через

фенотип может более непосредственно реагировать на факторы среды обитания. А значит, именно протеом более тесно связан с адаптациями (Vandenkoornhuysen et al., 2010; Diz et al., 2012; Baer, Millar, 2016). Под влиянием факторов среды белки модифицируются, связываются, ассоциируются друг с другом, диссоциируют; влияют на транскриптом и геном, формируют динамичное структурно-функциональное разнообразие протеомов; поддерживают морфотипы клеток, тканей, организмов (Cox and Mann 2011; Tomanek 2011; Baer et al., 2016) (Рис.3).

Особо стоит выделить группу пойкилотермных организмов, в том числе, водных.

Адаптируя свой метаболизм к условиям среды, именно пойкилотермные демонстрируют неисчерпаемые возможности адаптивной динамики протеомов под влиянием разнообразных факторов внешней и внутренней среды. Все вышесказанное позволяет взглянуть на белки не просто как на конечную точку молекулярного информационного потока, а как на дополнительную движущую силу физиологических процессов, их адаптацию и эволюцию. Протеомика дает все необходимые методические и методологические инструменты для оценки этих процессов.

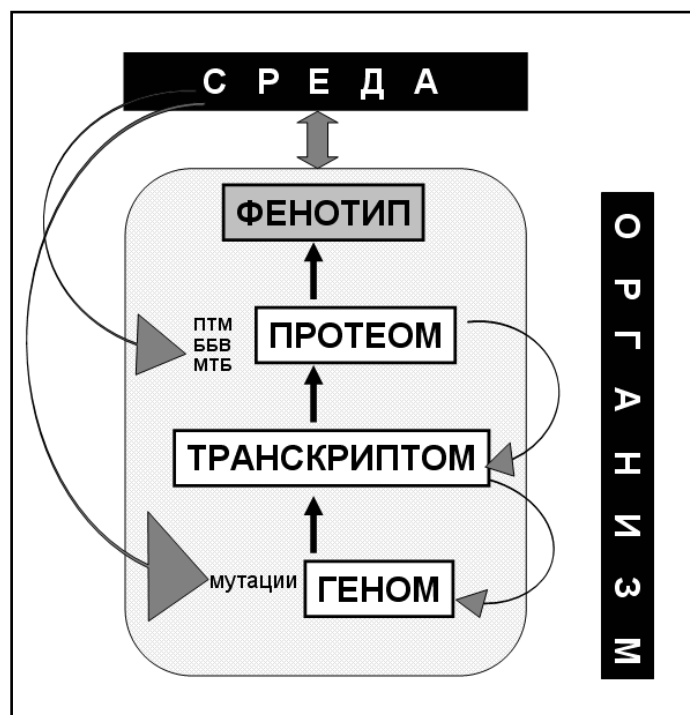


Рис.3. Участие протеома в адаптациях организма к среде обитания в свете центральной догмы молекулярной биологии. ПТМ – посттрансляционные модификации, ББВ – белок-белковые взаимодействия, МТБ – взаимодействие белков с метаболитами (по Baer et al., 2016).

Fig. 3. The participation of the proteome in adaptations of organism to the environment in the light of the central dogma of molecular biology. ПТМ – post-translational modification, ББВ - protein-protein interactions, МТБ – protein- metabolites interaction (in according with Baer et al., 2016, with modifications).

2. Методический аппарат протеомики

Развитие омик- технологий с конца 70-х годов 20-го века началось с ДНК секвенирования по Сэнгеру, простейших двумерных (2D) электрофоретических систем и хроматографии (Schneider, Riedel, 2010). В 80-е и 90-е годы появились технологии PCR и Array, MALDI-масс-спектрометрии (Nuwaysir et al., 1999; Edwards et al., 2017; Woods et al., 2019). Был запущен проект “Геном человека” (1990–2003 гг.) (Lander et al., 2001), позднее – проекты “Протеом человека” (2011 г.) и “Метаболом человека” (2004 г.), реализация которых проходит параллельно с развитием и совершенст-

вованием технологической базы (HUPO, 2010; Zgoda et al., 2013; Ponomarenko et al., 2016). Вошли в практику исследований метагеномный, метатранскриптомный и метапротеомный форматы анализа (Wang et al., 2014). Методический аппарат протеомики включает три основные технологии – электрофорез, хроматографию, масс-спектрометрию – и биоинформатику. Для экологических исследований водных пойкилотермных организмов стратегия протеомного анализа предполагает: 1) выбор биообразца, 2) разделение белковой смеси с помощью электрофореза или хроматографии;

3) подготовку к масс-спектрометрии; 4) масс-спектрометрию; и 5) идентификацию белка. Широко распространенным форматом работы является сочетание электрофореза и MALDI. После разделения белковой смеси в электрофорезе, исследуемый белок вырезают из геля и

Электрофорез

Для разделения белков используют одномерные и двумерные электрофоретические системы. В одномерном электрофорезе – диск-электрофорезе и электрофорезе в градиенте концентраций PAG – дифференцируют белки по величинам заряда и Mr соответственно. Наибольшей разрешающей способностью обладают двумерные системы и, прежде всего, система с разделением белков по величине изоэлектрической точки в первом направлении и величине Mr во втором направлении (Goufman et al., 2006; Desrosiers et al., 2007). Этот электрофорез может выполняться в усложненном формате дифференциального геле-электрофореза или DIGE (Bukurova et al., 2013), суть которого заключается в одновременном разделении нескольких образцов, помеченных флуоресцентными цианиновыми красителями с разной длиной волны испускаемого излучения. После разделения их наблю-

подвергают трипсинолизу; далее проводят MALDI-масс-спектрометрию и идентифицируют белок. Если для разделения белков используют жидкостную хроматографию, то трипсинолиз белков проводят до сепарирования образца.

дают по флуоресценции при разной длине волны и идентифицируют с помощью масс-спектрометрии. Другие 2D-электрофоретические системы – с диск-Е в первом направлении и (1) градиентом концентраций PAGE, (2) PAGE с мочевиной и (3) SDS-PAGE во втором направлении – позволяют разделить нативные (1) и денатурированные (2, 3) белки. Сопоставляя результаты этих электрофорезов, можно понять, как организован нативный белок: из одной полипептидной цепи; из нескольких полипептидных цепей, связанных ковалентно; из нескольких цепей, связанных нековалентно; то есть, выявить принцип организации белка по типу “мономер/олигомер” и тип связи между цепями – нековалентные (водородные, электростатические) или ковалентные (с помощью S-S-мостиков) (Andreeva et al., 2015, 2017, 2019; Andreeva, 2019).

MALDI – масс-спектрометрия и идентификация белков

Следующий после электрофореза этап протеомного анализа включает трипсинолиз белков и MALDI-масс-спектрометрию – метод измерения отношения массы заряженных частиц образца к их заряду и определения количества ионов с определенным отношением массы к заряду. Суть метода заключается в том, что под воздействием лазерного излучения, мягко ионизированные фрагменты нелетучих высокомолекулярных соединений, в том числе, белков и пептидов, пролетают определенное расстояние с разным временем, зависящим от величины Mr фрагмента. Анализируемый образец наносят на матрицу, которая смягчает разрушающее воздействие излучения. Фотоны лазерного луча ионизуют и испаряют матрицу мишени, а образующиеся из матрицы ионы ионизуют молекулы аналита, не разрушая их. Точный механизм MALDI ионизации неизвестен, однако в результате образуются, как правило, однозарядные ионы, захватившие протон либо иной катион. Масс-спектры MS (Рис. 4)

получают на тандемном MALDI-времяпролетном масс-спектрометре приборного парка BRUKER (Германия) (Goufman et al., 2006).

Последующая обработка масс-спектров проводится с помощью программы FlexAnalysis (Bruker Daltonics, Германия). При помощи программы Mascot (опция «пептидный фингерпринт», www.matrixscience.com) проводят поиск в базе данных NCBI среди белков всех организмов. Кандидатные белки, имеющие параметр достоверности score >83 в базе данных NCBI считают определенными надежно ($p < 0.05$). При необходимости получают спектры фрагментации MS/MS отдельных пептидов в тандемном режиме. И на заключительном этапе с использованием программного обеспечения Biotools 3.0 (Bruker Daltonics, Германия) проводят поиск кандидатов (гомологов) по MS и MS/MS (Andreeva, 2013).

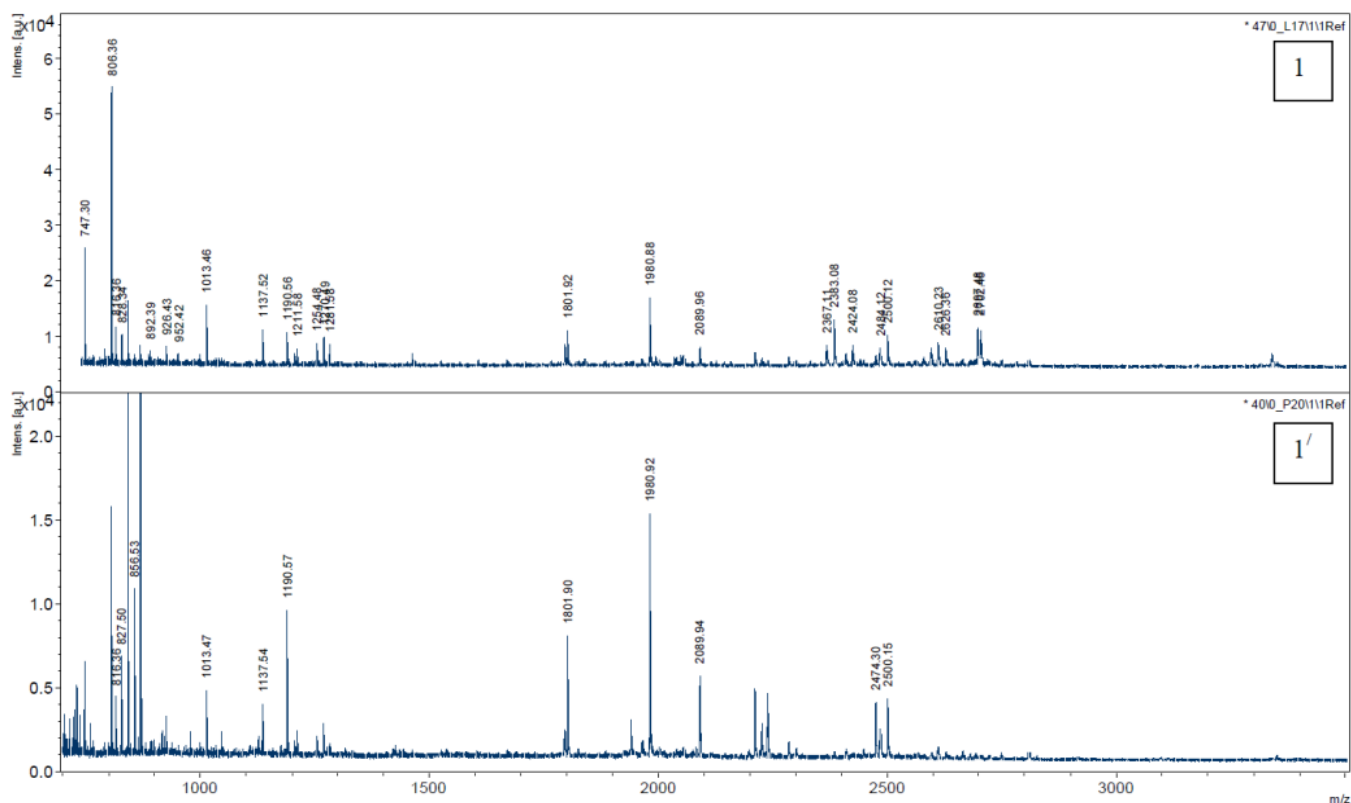


Рис.4. Масс-спектры “warm temperature acclimation-related 65kDa” – белка из сыворотки крови (1) и интерстициальной жидкости (1/) серебряного карася *Carassius auratus*. По оси абсцисс – отношение массы к заряду, по оси ординат – интенсивность сигнала (Andreeva et al., 2019, Supplementary material).

Fig. 4. Mass spectra of “warm temperature acclimation-related 65kDa” - protein from blood serum (1) and interstitial fluid (1/) of goldfish *Carassius auratus*. On the abscissa axis is the ratio of mass to charge, on the ordinate axis is the signal intensity (Andreeva et al., 2019, Supplementary material).

3. Модельные и немодельные объекты

Число видов с несеквенированными геномами несоразмерно больше, чем модельных видов, имеющих секвенированные геномы. И, как правило, именно эти виды и являются объектами экологических исследований. В связи с этим, имеют место сложности идентификации белков у немодельных объектов. Однако, для исследования протеомов этих организмов существуют подходы. Один из них основан на гомологии белков. В его основе лежит понимание того, что в эволюции позвоночных все типичные для них белковые семейства появились в низших таксонах и что все основные эволюционные преобразования белков были, в основном, завершены в этих таксонах. По этой причине созданные базы данных по геномам и белкам млекопитающих могут в ряде случаев использоваться для идентификации белков организмов низших *Vertebrata*. Разумеется, это касается лишь тех случаев, когда продукты ортологичных генов имеют гомологичные последовательности. Та-

кой подход подразумевает параллельно идущий сбор информации и формирование собственных баз данных по геномам и белкам организмов из низших таксонов. Однако, базы данных по белкам млекопитающих не всегда пригодны для идентификации белков низших позвоночных. Но базы данных по белкам модельных видов могут помочь в реконструкции фрагментов аминокислотных последовательностей белков у немодельных видов. Последние технологичные разработки позволяют секвенировать геномы практически любых организмов, а информационные системы нового поколения аннотировать их, то есть считывать аминокислотные последовательности отдельных белков с генетической матрицы (Tomanek 2011; Diz et al., 2012; Armengaud et al., 2014). Данное обстоятельство выводит исследования немодельных организмов из зависимости от методов, основанных на гомологии белков разных организмов (Armengaud et al., 2014; Papakostas et al., 2014).

4. Проект “Протеом человека” как стимул для развития протеомных исследований разных групп организмов

Примером наиболее сбалансированного по всем “омик” – уровням исследования является международный проект “Протеом человека”, “ППЧ” или “НРР” (Archakov et al., 2019), в котором участие России обозначено в Дорожной карте как “Протеом 18-ой хромосомы человека: геноцентричный подход к идентификации транскриптов, белков и пептидов” (31 мая 2010 г.). “С 2008 года международной организацией “Протеом человека” организован и проведен ряд научных совещаний, посвященных вопросам определения целей, подходов и методических рекомендаций к реализации ППЧ. Планируется, что результатом выполнения I этапа проекта (длительностью 6 лет) с использованием масс-спектрометрических подходов будут идентифицированы основные (немодифицированные) протеины человека в различных тканях; II этап ППЧ (длительностью 5 лет) направлен на идентификацию модифицированных протеинов, т.е. продуктов реализации однонуклеотидных полиморфизмов, а также протеинов, возникающих в ходе альтернативного сплайсинга или посттрансляционных модификаций” (Archakov et al., 2007; Picotti et al., 2009)).

Сложности на пути реализации проекта заключаются в том, что, в отличие от константного генома, протеом “зависит от времени, физиологических стимулов и поэтому является ситуационным” (M. Frenkel-Morgenstern et al., 2010). Его состав вариативен и, в зависимости от времени, содержание белков и их модифицированных форм резко изменяется. К тому же, имеющиеся на сегодняшний день технологии пока не в состоянии выявлять малокопийные белки в биологических образцах, а аналога ППЧ в протеомике не существует (Ivanov et al., 2006). “В настоящее время нет единого методического подхода к идентификации полного протеома. Наиболее перспективным является так называемый “геноцентричный подход”, в соответствии с которым белки идентифицируются путем проецирования результатов масс-спектрометрического анализа биоматериала на весь геном. Геноцентричный подход позволяет сконцентрировать внимание каждого участника проекта на определенной части целого генома, хромосоме, чтобы провести детальный анализ белков, кодируемых генами выбранной хромосомы” (HUPO, 2010).

Продолжающиеся с 2010 года работы про ППЧ позволили установить, что около 60-ти белков хромосомы ассоциированы с сиг-

нальными и метаболическими путями. Один из них - сигнальный путь, опосредуемый трансформирующим ростовым фактором бета или $\text{tgf-}\beta$ -сигнальный путь, в котором задействованы четыре белка, кодируемые генами 18-ой хромосомы; этот путь вовлечен в широкий диапазон клеточных процессов.

Идущие параллельно работы по анализу генома и протеома человека стимулировали пополнение баз данных по геномам и протеомам других групп организмов. Протеомные исследования в экологии охватывают все большее число видов и реализуются в разных форматах, включая метапротеомный. В одной из работ (Bahamonde et al., 2016) собраны биотические и абиотические факторы, влияние которых на водные организмы было описано в литературе; а также физиологические реакции организмов и их ответы на разных “омик”-уровнях, включая протеомный. Среди абиотических факторов перечислены свойства и физические параметры среды – соленость, щелочность, pH, содержание кислорода, углекислого газа; температура, глубина, течения. Среди биотических факторов отмечены генетика, возраст, пол и экологические связи “хищник-жертва”, “хозяин-паразит” и конкуренция. В данном разделе мы приведем примеры, в которых рассмотрена связь некоторых абиотических факторов среды (соленость воды, содержание в воде углекислого газа и органических загрязнителей), с одной стороны, и протеомного “ответа” со стороны водных организмов, с другой стороны, а также приведем пример метапротеомного формата анализа.

1. В двух работах оценивалось влияние солености воды (1) на экспрессию белка аполипопротеина ApoA-I и гена аполипопротеина *ApoA-I* из печени рыбы айю (Chen et al., 2009) и (2) на реорганизацию олигомерных форм аполипопротеинов ApoA-I и Apo-14 в составе липопротеинов высокой плотности сыворотки крови серебряного караса (Andreeva et al., 2019). В первой работе было показано, что при акклимации рыб к солоноватой воде, в их печени достоверно снижались экспрессия белка и гена *ApoA-I*, на основании чего авторами было выдвинуто предположение об участии ApoA-I в осморегуляции айю. Во второй работе на примере акклимированного к критической солености караса было показано, что под влиянием солености воды олигомерные комплексы из ApoA-I и Apo-14 в составе липопротеинов высокой плотности – распадаются на мелкие частицы. Выдвинуто предположение,

что этот распад направлен на увеличение осмоляльности среды организма и способствует поддержанию жизнедеятельности рыб в условиях солености.

2. В другой работе (Clement et al, 2017) авторы провели комплексный анализ изменения профилей транскриптома и протеома морской диатомовой водоросли *T.pseudomonada* при снижении содержания в воде углекислого газа. Были проведены работы по идентификации белков в составе протеома, дифференциации их на разные классы, анализ динамики ферментативной активности водорослей и соотношения классов ферментов, участвующих в адаптациях к среде с пониженным содержанием CO₂. Полученные результаты показали, при снижении напряжения углекислого газа меняются профили и транскрипции и протеома, меняется активность ферментов и происходит перестройка метаболических путей.

3. В следующих двух работах оценивалось влияние органических загрязнителей на протеомы водных организмов – мидий (Rocher et al., 2015) и пескаря (Liang et al.,

2018). В первой работе авторы сконцентрировали усилия на идентификации белков из жабер мидий (из 700 белков идентифицировано 203) и создании на их основе каталога для последующего мониторинга состояния мидий под влиянием загрязнителей. Во второй работе авторы изучали дифференциальную экспрессию белков мозга самок и самцов пескаря под влиянием бензотриазола, в результате чего была выявлена дифференциальная экспрессия по 33 и 23 белкам в мозге самок и самцов соответственно в ответ на бензотриазол.

4. В работе Sowell (Sowell et al., 2009) проведен метапротеомный анализ микроорганизмов поверхностных вод Саргассова моря в периоды апвеллинга. Выявлено более 2000 пептидов и установлена их принадлежность более чем к 200 белкам из трех таксономических групп микроорганизмов – *Prochlorococcus*, *Synechococcus* и SAR11. Установлен эффект повышенной экспрессии транспортных белков в группе прокариот для активизации поглощения питательных веществ в условиях истощенных питательных сред.

5. Эволюционные приложения протеомики

Аппарат протеомики активно используется в сравнительном и эволюционном форматах. Эволюционное приложение протеомного анализа можно продемонстрировать на примере развития одной из классических фундаментальных концепций – о консервативном составе белков плазмы позвоночных. Этой концепции уже около 100 лет, но общие ее очертания остаются прежними. Протеомика стимулировала ее обновление и наметила пути дальнейшего развития в виде новых гипотез.

Рассмотрим кратко эволюцию этой концепции и вклад протеомики в ее развитие. Первые работы по электрофорезу плазмы человека и других групп позвоночных выявили в ней одни и те же фракции – глобулины, альбумины (Alb) и преальбумины, содержащие одни и те же “истинные белки плазмы”, выполняющие в системе кровообращения специфические функции (прежде всего, создания и поддержания коллоидно-осмотического давления): гаптоглобины, трансферрины, иммуноглобулины, альбумины, транстиретин (Tiselius, 1937; Larsson et al., 1985). Все они организованы по типу мономеров с Mr не менее 60 kDa (Schulz, Schirmer, 1979). Кроме них, в крови позвоночных есть “транзитные” белки, попавшие в нее из разрушенных клеток и микроорганизмов. Они не оказывают существенного влияния на коллоидно-осмотическое давление плазмы в силу незначительной концентрации (Anderson

et al., 2004; Liotta, Petricoin, 2006). Такой единообразно организованный протеом плазмы характерен для всех позвоночных.

Однако рыб от других Vertebrata отличает особая организация низкомолекулярной фракции плазмы, которая не всегда содержит альбумин (Moore, 1945; Deutsch, McSchan, 1949; Power et al., 2000; Wicher, Fries, 2006). С помощью MALDI в протеомах плазмы человека и низших позвоночных идентифицированы сотни “истинных” и “транзитных” (Liotta, Petricoin, 2006) белков и пептидов (Anderson et al., 2004; Lucitt et al., 2008; Babaei et al., 2013), подтвержден высокий уровень их совпадения по гомологичным белкам, но только у рыб альбумин обнаружен не во всех отрядах/семействах (Caixia Li et al., 2016). Секвенирование геномов не выявило гена альбумина в группе высших костистых рыб; нет альбумина и на протеомных картах плазмы этих рыб. Между тем, до 90-х годов прошлого века считалось, что альбумины и/или альбуминоподобные белки есть у всех рыб. Все дело в том, что под альбуминами ранее подразумевались высокоподвижные в электрическом поле, высокогидратированные белки с разной структурой.

А согласно современным критериям, альбумины – это группа родственных белков с определенными элементами структуры. Вследствие выявления гомологии в группе белков с особой, обогащенной цистеином аминокислотой,

кислотной последовательностью, альбумины были объединены с некоторыми другими белками – афамином, фетопроотеином, витамин D-связывающим белком и белком внеклеточного матрикса – в семейство альбуминоидов (Shugang Li et al., 2017). Все они детерминированы гомологичными генами, имеют характерную доменную структуру и строгую архитектуру S-S-мостиков. Те же белки, которые у высших костистых рыб ранее называли альбуминами и альбуминоподобными белками, при идентификации методами протеомики оказались принадлежащими совершенно другим классам белков (например, гемопексинам), а иногда, и совокупности белков, объединенных в составе липопротеиновых частиц (ЛПВП) (Andreeva,

2019). Геномный анализ выявил гены альбумина среди рыб только в группах древних (*Dipnoi*), примитивных (*Petromyzon tiformes*) и низших костистых *Teleostei* (*Osteoglossiformes*, *Esociformes*, *Salmoniformes*) (Byrnes, Gannon, 1990; Salem et al., 2010; Pasquier et al., 2016). А самая пластичная с точки зрения экологии группа высших костистых рыб оказалась лишена альбумина (Andreeva, 2019).

Вероятно, после третьей полногеномной дупликации (TGD), которая коснулась из всех позвоночных, предположительно, только костистых рыб, ген альбумина был потерян только в группе высших *Teleostei* (Braasch et al., 2016; Noel et al., 2010) (Рис.5).

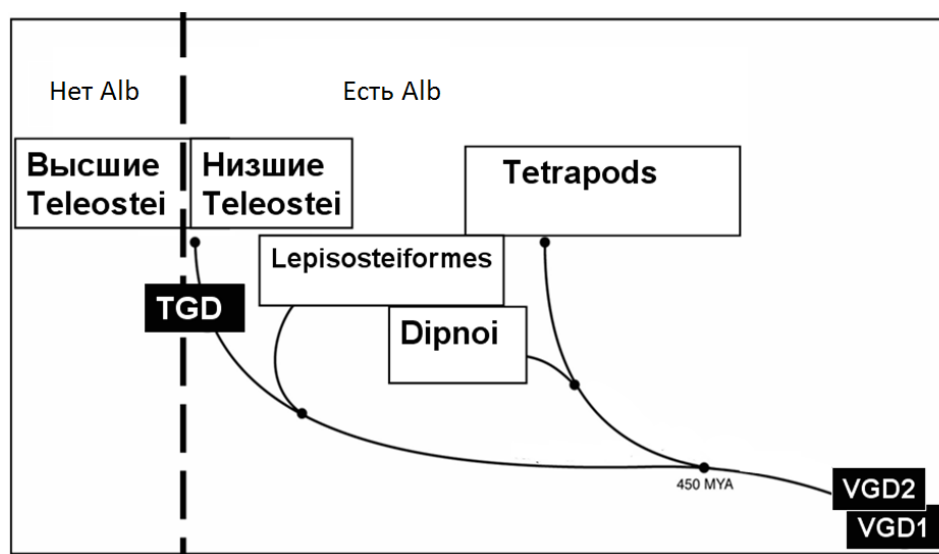


Рис. 5. Схема эволюции позвоночных с указанием событий полногеномных дупликаций позвоночных (VGD), в том числе и коснувшихся только *Teleostei* (TGD) (По Braasch et al., 2016), и потери альбумина (Alb) в группе высших костистых рыб.

Fig. 5. Scheme of Vertebrata evolution showing events of genome-wide duplication (VGD) and *Teleostei* genome duplication (TGD) (in according with Braasch et al., 2016, with modification), and loss of albumin (Alb) in the group of higher bony fish.

Эти новые сведения поставили ряд новых вопросов: а как стабилизируется капиллярный обмен в группе организмов, лишенных специализированного осмотически активного белка альбумина? Как объяснить высочайшую экологическую пластичность этой группы рыб в отсутствие у них белка, который у млекопитающих взял на себя функцию осморегуляции? Появилась гипотеза, согласно которой функцию альбумина у высших костистых взяли на себя доминирующие по относительному содержанию липопротеины высокой плотности (Andreeva, 2019). Их высокое содержание в крови костистых (Babin, Vernier, 1989), особенно, в группе пресноводных *Teleostei* (до 36%), превосходящее концентрацию альбумина в крови низших *Teleostei* (до 28%), а также

другие свойства, соответствующие критерию осмотически активных белков, предполагают их участие в стабилизации капиллярной фильтрации (Andreeva, 2019).

Таким образом, протеомные технологии существенно изменили представления об эволюции протеома плазмы крови позвоночных. Они стимулировали появление новых гипотез – об альтернативных безальбуминовых механизмах стабилизации капиллярной фильтрации у костистых рыб, о разных стратегиях организации протеома плазмы рыб по разные стороны критической солености, о неучтенных факторах гипотезы Старлинга и другие (Andreeva, 2019). Так внедрение протеомных технологий стимулировало пересмотр и обновление старой фундаментальной концепции.

Подводя итоги, отметим, что приведенные в обзоре примеры доказывают высокую информативность протеомных технологий при решении вопросов экологии и эволюции. Протеомика может быть как самостоятельным ин-

струментом, так и дополнительным звеном в комплексном анализе экосистем и мощным стимулом для развития старых и рождения новых гипотез и теорий.

Работа выполнена в рамках государственного задания АААА-А19-119102890013-3

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Anderson N.L., Polanski M., Pieper R. et al. The human plasma proteome: a nonredundant list developed by combination of four separate sources // *Molecular and Cellular Proteomics*. 2004. Vol. 3(4). P. 311–326. DOI: 10.1074/mcp.M300127-MCP200
- Andreeva A.M. Identification of some proteins of blood and tissue fluid in the fish with enciphered genome // *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2013. Vol. 49. № 6. P. 551–561. DOI: 10.1134/S0022093013060029.
- Andreeva A.M. The Strategies of Organization of the Fish Plasma Proteome: with and without Albumin // *Russian Journal of Marine Biology*. 2019. Vol. 45. № 4. P. 263–274. DOI: 10.1134/S0134347519040028
- Andreeva A.M., Lamas N.E., Serebryakova M.V. et al. Reorganization of low-molecular-weight fraction of plasma proteins in the annual cycle of cyprinidae // *Biochemistry (Moscow)*. 2015a. Vol. 80. P. 208–218. DOI: 10.1134/S0006297915020078
- Andreeva A.M., Serebryakova M.V., Lamash N.E. Oligomeric protein complexes of apolipoproteins stabilize the internal fluid environment of organism in redfins of the *Tribolodon* genus [Pisces; Cypriniformes, Cyprinidae] // *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*. 2017. V. 22. P. 90–97. DOI: 10.1016/j.cbd.2017.02.007
- Alla M. Andreeva, Alexey S. Vasiliev, Ilya Yu. Toropygin, Darina V. Garina, Nina Lamash, Alexandra Filippova. Involvement of apolipoprotein A in maintaining tissue fluid balance in goldfish *Carassius auratus* // *Fish Physiology and Biochemistry*. 2019. Vol. 45. № 5. P. 1717–1730. DOI: 10.1007/s10695-019-00662-1.
- Archakov A.I., Ivanov Y.D., Lisitsa A.V., V.G. Zgoda. AFM fishing nanotechnology is the way to reverse the Avogadro number in proteomics // *Proteomics*. 2007. Vol. 7. P. 4–9.
- Archakov A. I., Aseev A. L., Bykov V.A., Grigoriev A.I., Govorun V.M., Ilgisonis E.V., Ivanov Y.D., Ivanov V.T., Kiseleva O.I., Kopylov A.T., Lisitsa A.V., Mazurenko S.N., Makarov A.A., Naryzhny S.N., Pleshakova T.O., Ponomarenko E.A., Poverennaya E.V., Pyatnitskii M.A., Sagdeev R.Z., Skryabin K.G., Zgoda V.G. Challenges of the Human Proteome Project: 10-Year Experience of the Russian Consortium. // *J Proteome Res*. 2019. DOI: 10.1021/acs.jproteome.9b00358
- Armengaud J., Trapp J., Pible O., Geffard O., Chaumot A., Hartmann E. M. Non-model organisms, a species endangered by proteogenomics // *Journal of Proteomics*. 2014. Vol. 105. P. 5–18. DOI: 10.1016/j.jprot.2014.01.007
- Babaei F., Ramalingam R., Tavendale L. et al. Novel blood collection method allows plasma proteome analysis from single zebrafish // *J Proteome Res*. 2013. Vol. 12(4). P. 1580–1590. DOI:10.1021/pr3009226
- Babin P.J. Plasma lipoprotein and apolipoprotein distribution as a function of density in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // *Biochem J*. 1987. Vol. 246. № 2. P. 425–429. DOI:10.1042/bj2460425
- Baer B., Millar A.H.. Proteomics in evolutionary ecology // *Journal of Proteomics*. 2016. Vol. 135. P. 4–11. DOI: 10.1016/j.jprot.2015.09.031
- Bahamonde Paulina a., April Feswick, Meghan A. Isaacs, Kelly R. Munkittrick, Christopher J. Martyniuk. Defining the role of omics in assessing ecosystem health: perspectives from the Canadian environmental monitoring program // *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2016. Vol. 35. № 1. P. 20–35.
- Braasch I., Gehrke A.R., Smith J.J. et al. The spotted gar genome illuminates vertebrate evolution and facilitates human-teleost comparison // *Nat. Genet*. 2016. Vol. 48(4). P. 427–437. DOI: 10.1038/ng.3526
- Bukurova Iu.A., Krasnov G.S., Nikitina I.G., Karpov V.L., Lisitsyn N.A., Beresten' S.F. Serological diagnosis of tumors: methods of marker's search // *Mol Biol (Mosk)*. 2013. Vol. 47(1). P. 3–11.
- Byrnes L., Gannon F. Atlantic salmon (*Salmo salar*) serum albumin: cDNA sequence, evolution, and tissue expression // *DNA Cell Biol*. 1990. Vol. 9(9). P. 647–655. DOI: 10.1089/dna.1990.9.647
- Caixia Li, Xing Fei Tan, Teck Kwang Lim et al. Comprehensive and quantitative proteomic analyses of zebrafish plasma reveals conserved protein profiles between genders and between zebrafish and human // *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6:24329. P. 1–15. DOI: 10.1038/srep24329
- Chen J., Shi H., Hai Q.Hu. et al. Apolipoprotein A-I, a hyperosmotic adaptation-related protein in ayu (*Plecoglossus altivelis*) // *Comp. Biochem. Physiol. B*. 2009. Vol. 152. P. 196–201. DOI: 10.1016/j.cbpb.2008.11.005
- Clement R., Sabrina Lignon, Pascal Mansuelle, Erik Jensen, Matthieu Pophilla, Regine Lebrun, Yann Denis, Carine Puppo, Stephen C. Maberly, Brigitte Gontero. Responses of the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* to changes in CO₂ concentration: a proteomic approach // *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7:42333. P. 1–12. DOI: 10.1038/srep42333
- Cox J, Mann M. Quantitative, high-resolution proteomics for data-driven systems biology // *Annu Rev Biochem*. 2011. Vol. 80. P. 273–299. DOI: 10.1146/annurev-biochem-061308-093216
- Diz A.P., Martinez-Fernandez M., Rolan-Alvarez E. Proteomics in evolutionary ecology: linking the genotype with the phenotype // *Mol Ecol*. 2012. Vol. 21. P. 1060–1080. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2011.05426.x

- Desrosiers R. R., Edith Beaulieu, Marguerite Buchanan, Richard Beliveau. Proteomic Analysis of Human Plasma Proteins by Two-Dimensional Gel Electrophoresis and by Antibody Arrays Following Depletion of High-Abundance Proteins // *Cell Biochem Biophys*. 2007. Vol. 49. P. 182–195. DOI: 10.1007/s12013-007-0048-z.
- Deutsch H.F., McSchan W.H. Biophysical studies of blood plasma proteins; electrophoretic studies of the blood serum proteins of some lower animals // *J. Biol. Chem*. 1949. Vol. 180(1). P. 219–234.
- Edwards Joan E., Robert J. Forster, Tony M. Callaghan, Veronika Dollhofer, Sumit S. Dagar, Yanfen Cheng, Jongsoo Chang, Sandra Kittelmann, Katerina Fliegerova, Anil K. Puniya, John K. Henske, Sean P. Gilmore, Michelle A. O'Malley, Gareth W. Griffith and Hauke Smidt. PCR and Omics Based Techniques to Study the Diversity, Ecology and Biology of Anaerobic Fungi: Insights, Challenges and Opportunities // *Frontiers in Microbiology*. 2017. Vol. 8. P. 1–27. DOI:10.3389/fmicb.2017.01657
- Frenkel-Morgenstern M., A.A. Cohen, N. Geva-Zatorsky, E. Eden, J. Prilusky, I. Issaeva, A. Sigal, C. Cohen-Saidon, Y. Liron, L. Cohen, T. Danon, N. Perzov, U. Alon. Dynamic Proteomics: a database for dynamics and localizations of endogenous fluorescently-tagged proteins in living human cells // *Nucleic acids research*. 2010. Vol. 38. P. D508–12. DOI: 10.1093/nar/gkp808
- Goufman E.I., Moshkovskii S.A., Tikhonova O.V., Lokhov P.G., Zgoda V.G., Serebryakova M.V., Toropygin I.Y., Vlasova M.A., Safarova M.R., Makarov O.V., Archakov A.I. Two-dimensional electrophoretic proteome study of serum thermostable fraction from patients with various tumor conditions // *Biochemistry (Mosc)*. 2006. Vol. 71(4). P. 354–360. DOI: 10.1134/s000629790604002x
- "Human Genome Project Information http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/home.shtml."
- HUPO, "A gene-centric human proteome project: HUPO--the Human Proteome organization"// *Molecular & cellular proteomics : MCP*. Vol. 9. 2010. P. 427–9.
- Ivanov Y.D., V.M. Govorun, V.A. Bykov, A.I. Archakov. Nanotechnologies in proteomics // *Proteomics*. 2006. Vol. 6. P. 1399–414. DOI: 10.1002/pmic.200402087
- Lander E.S., L.M. Linton, B. Birren, C. Nusbaum, M.C. Zody, J. Baldwin, K. Devon, K. Dewar, M. Doyle, W. Fitz-Hugh, R. Funke, D. Gage, K. Harris, A. Heaford, J. Howland, L. Kann, J. Lehoczy, R. LeVine, P. McEwan, K. McKernan, J. Meldrim, J.P. Mesirov, C. Miranda, W. Morris, J. Naylor, C. Raymond, M. Rosetti, R. Santos, A. Sheridan, C. Sougnez, N. Stange-Thomann, N. Stojanovic, A. Subramanian, D. Wyman, J. Rogers, J. Sulston, R. Ainscough, S. Beck, D. Bentley, J. Burton, C. Clee, N. Carter, A. Coulson, R. Deadman, P. Deloukas, A. Dunham, I. Dunham, R. Durbin, L. French, D. Grafham, S. Gregory, T. Hubbard, S. Humphray, A. Hunt, M. Jones, C. Lloyd, A. McMurray, L. Matthews, S. Mercer, S. Milne, J.C. Mullikin, A. Mungall, R. Plumb, M. Ross, R. Shownkeen, S. Sims, R.H. Waterston, R.K. Wilson, L.W. Hillier, J.D. McPherson, M.A. Marra, E.R. Mardis, L.A. Fulton, A.T. Chinwalla, K.H. Pepin, W.R. Gish, S.L. Chissoe, M.C. Wendl, K.D. Delehaunty, T.L. Miner, A. Delehaunty, J.B. Kramer, L.L. Cook, R.S. Fulton, D.L. Johnson, P.J. Minx, S.W. Clifton, T. Hawkins, E. Branscomb, P. Predki, P. Richardson, S. Wenning, T. Slezak, N. Doggett, J.F. Cheng, A. Olsen, S. Lucas, C. Elkin, E. Uberbacher, M. Frazier, et al.. Initial sequencing and analysis of the human genome // *Nature*. 2001. Vol. 409. P. 860–921. DOI: 10.1038/35057062
- Larsson M., Pettersson T., Carlström A. Thyroid hormone binding in serum of 15 vertebrate species: isolation of thyroxine-binding globulin and prealbumin analogs // *Gen. Comp. Endocrinol*. 1985. Vol. 58(3). P. 360–375. DOI: 10.1016/0016-6480(85)90108-x
- Lemos Marco F. L. Amadeu M. V. M. Soares¹, Antonio C. Correia¹ and Ana C. Esteves. Proteins in ecotoxicology – How, why and why not? // *Proteomics*. 2010. Vol. 10. P. 873–887. DOI: 10.1002/pmic.200900470
- Liang X., Feswick A., Simmons D., Martyniuk C. J.. Environmental toxicology and omics: A question of sex // *Journal of Proteomics*. 2018. Vol. 172. P. 152–164. DOI: 10.1016/j.jprot.2017.09.010
- Liotta L.A., Petricoin E.F. Serum peptidome for cancer detection: spinning biologic trash into diagnostic gold // *J. Clin. Invest*. 2006. Vol. 116(1). P. 26–30. DOI: 10.1172/JCI27467
- Lucitt M.B., Price T.S., Pizarro A. et al. Analysis of the Zebrafish Proteome during Embryonic Development // *Mol Cell Proteomics*. 2008. Vol. 7(5). P. 981–994. DOI: 10.1074/mcp.M700382-MCP200
- Moore D.H. 1945. Species differences in serum protein patterns // *J. Biol. Chem*. Vol. 161. P. 21–32.
- Martyniuk Christopher J., Simmons Denina B. Spotlight on environmental omics and toxicology: a long way in a short time // *Comparative Biochemistry and Physiology Part D*. 2016. Vol. 19. P. 97–101. DOI: 10.1016/j.cbd.2016.06.010
- Nuwaysir E. F., Bittner M., Trent J., Barrett J. C., Afshari C. A. Microarrays and toxicology: the advent of toxicogenomics // *Mol Carcinog*. 1999. Vol. 24. P. 153–159. DOI: 10.1002/(sici)1098-2744(199903)24:3<153::aid-mc1>3.0.co;2-p
- Noel E.S., Reis M., Arain Z., Ober E.A. Analysis of the Albumin/alpha-Fetoprotein/Afamin/Group specific component gene family in the context of zebrafish liver differentiation // *Gene Expr. Patterns*. 2010. Vol. 10(6). P. 237–243. DOI: 10.1016/j.gep.2010.05.002
- Pasquier J., Cabau C., Nguyen T., Jouanno E, Severac D, Braasch I, Journot L, Pontarotti P, Klopp C, Postlethwait JH, Guiguen Y, Bobe J. Gene evolution and gene expression after whole genome duplication in fish: the PhyloFish database // *BMC Genomics*. 2016. Vol. 17(368). P. 1–10. DOI: 10.1186/s12864-016-2709-z
- Picotti P., B. Bodenmiller, L.N. Mueller, B. Domon, R. Aebersold. Full dynamic range proteome analysis of *S. cerevisiae* by targeted proteomics // *Cell*. 2009. Vol. 138. P. 795–806. DOI: 10.1016/j.cell.2009.05.051

- Power D.M., Elias N.P., Richardson S.J., Mendes J, Soares CM, Santos CR. Evolution of the Thyroid Hormone-Binding Protein, Transthyretin // *General and Comparative Endocrinology*. 2000. Vol. 119. P. 241–255. DOI: 10.1006/gcen.2000.7520
- Papakostas S., Vasemägi A., Himberg M., and Primmer C. R. Proteome variance differences within populations of European whitefish (*Coregonus lavaretus*) originating from contrasting salinity environments // *J. Proteomics*. 2014. Vol. 105. P. 144–150. DOI: 10.1016/j.jprot.2013.12.019
- Ponomarenko Elena A., Ekaterina V. Poverennaya, Ekaterina V. Ilgisonis, Mikhail A. Pyatnitskiy, Arthur T. Kopylov, Victor G. Zgoda, Andrey V. Lisitsa, and Alexander I. Archakov. The Size of the Human Proteome: The Width and Depth // *International Journal of Analytical Chemistry*. ID 7436849. 2016. P. 6. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/7436849>
- Prieto C. J. De Las Rivas. Structural domain–domain interactions: Assessment and comparison with protein–protein interaction data to improve the interactome // *Proteins*. 2010. P. 109–117. DOI: 10.1002/prot.22569
- Primmer C. R., S. Papakostas, E. H. Leder, M. J. Davis and M. A. Ragan. Annotated genes and nonannotated genomes: cross-species use of Gene Ontology in ecology and evolution research // *Molecular Ecology*. 2013. Vol. 22. P. 3216–3241. DOI: 10.1111/mec.12309
- Rhee Jae-Sung, Lee Jae-Seong. Whole genome data for omics-based research on the self-fertilizing fish *Kryptolebias marmoratus* // *Marine Pollution Bulletin*. 2014. Vol. 85. P. 532–541. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2014.04.005
- Revel Messika, Chatel Amelie, Mouneyrac Catherine. Omics tools: New challenges in aquatic nanotoxicology? // *Aquatic Toxicology*. 2017. Vol. 193. P. 72–85. DOI:10.1016/j.aquatox.2017.10.005
- Rocher B., Florence Bultelle, Philippe Chan, Frank Le Foll, Julie Letendre, Tiphaine Monsinjon, Stephanie Olivier, Romain Peden, Agnes Poret, David Vaudry and Thomas Knigge. 2-DE Mapping of the Blue Mussel Gill Proteome: The Usual Suspects Revisited // *Proteomes*. 2015. Vol. 12. № 3(1). P. 3–41. DOI: 10.3390/proteomes3010003
- Sowell S. M., Larry J Wilhelm, Angela D Norbeck, Mary S Lipton, Carrie D Nicora, Douglas F Barofsky, Craig A Carlson, Richard D Smith and Stephen J Giovanonni. Transport functions dominate the SAR11 metaproteome at low-nutrient extremes in the Sargasso Sea // *The ISME Journal*. 2009. Vol. 3. P. 93–105. DOI: 10.1038/ismej.2008.83
- Schneider T., Riedel K. Environmental proteomics: Analysis of structure and function of microbial communities // *Proteomics*. 2010. Vol. 10. P. 785–798. DOI: 10.1002/pmic.200900450
- Salem M., Xiao C., Womack J. et al. A microRNA repertoire for functional genome research in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Mar. Biotechnol. (NY)*. 2010. Vol. 12(4). P. 410–429. DOI: 10.1007/s10126-009-9232-z
- Schulz G.E., Schirmer R.H. 1979. Principles of Protein Structure. Springer, New York. 314 p.
- Shugang Li, Yiping Cao and Fang Geng. Genome-Wide Identification and Comparative Analysis of Albumin Family in Vertebrates // *Evolutionary Bioinformatics*. 2017. Vol. 13. P. 1–6. DOI: 10.1177/1176934317716089
- Tomanek L. Environmental proteomics: changes in the proteome of marine organisms in response to environmental stress, pollutants, infection, symbiosis, and development // *Annu Rev Mar Sci*. 2011. Vol. 3. P. 373–399. DOI: 10.1146/annurev-marine-120709-142729
- Tiselius A. Electrophoresis of serum globulin: Electrophoretic analysis of normal and immune sera // *Biochem J*. 1937. Vol. 31(9). P. 1464–1477.
- Vandenkoornhuysen P., Alexis Dufresne, Achim Quaiser, Gwenola Gouesbet, Francoise Binet, Andre -Jean Francez, Stephane Mahe, Myriam Bormans, Yvan Lagadeuc and Ivan Couee. Integration of molecular functions at the ecosystemic level: breakthroughs and future goals of environmental genomics and post-genomics // *Ecology Letters*. 2010. Vol. 13. P. 776–791. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2010.01464.x
- Volkova P. Yu., Geras'kin S. A. 'Omic' technologies as a helpful tool in radioecological research // *Journal of Environmental Radioactivity*. 2018. Vol. 189. P. 156–167. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2018.04.011
- Wang Da-Zhi, Zhang-Xian Xie, Shu-Feng Zhang. Marine metaproteomics: Current status and future directions // *Journal of proteomics*. 2014. Vol. 97. P. 27–35. DOI: 10.1016/j.jprot.2013.08.024
- Woods AG, Sokolowska I, Ngounou Wetie AG, Channaveerappa D, Dupree EJ, Jayathirtha M, Aslebagh R, Wormwood KL, Darie CC. Mass Spectrometry for Proteomics-Based Investigation // *Adv Exp Med Biol*. 2019. Vol. 1140. P. 1–26. DOI: 10.1007/978-3-030-15950-4_1
- Wicher K.B., Fries E. Haptoglobin, a hemoglobin-binding plasma protein, is present in bony fish and mammals but not in frog and chicken // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006. Vol. 103(11). P. 4168–4173. DOI: 10.1073/pnas.0508723103
- Zgoda Victor G., Arthur T. Kopylov, Olga V. Tikhonova, Alexander A. Moisa, Nadezhda V. Pyndyk, Tatyana E. Farafonova, Svetlana E. Novikova, Andrey V. Lisitsa, Elena A. Ponomarenko, Ekaterina V. Poverennaya, Sergey P. Radko, Svetlana A. Khmeleva, Leonid K. Kurbatov, Aleksey D. Filimonov, Nadezhda A. Bogolyubova, Ekaterina V. Ilgisonis, Aleksey L. Chernobrovkin, Alexis S. Ivanov, Alexei E. Medvedev, Yury V. Mezentssev, Sergei A. Moshkovskii, Stanislav N. Naryzhny, Elena N. Ilina, Elena S. Kostjukova, Dmitry G. Alexeev, Alexander V. Tyakht, Vadim M. Govorun, Alexander I. Archakov. Chromosome 18 Transcriptome Profiling and Targeted Proteome Mapping in Depleted Plasma, Liver Tissue and HepG2 Cells // *Proteome Res*. 2013. Vol. 12(1). P. 123–134. DOI: 10.1021/pr300821n

PROSPECTS OF PROTEOM RESEARCHES OF WATER ORGANIZMS (REVIEW)

A. M. Andreeva

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences,
152742 Borok, Russia, e-mail: aam@ibiw.ru*

The review provides information on one of the branches of molecular genetics – proteomics, its goals and objectives, methodological apparatus, and the growing role in the study of natural ecosystems. Problems (1) of lower efficiency of extracting useful information when studying ecosystems at the proteomic level compared with the genomic level and ways to overcome it are discussed; (2) features of the study of proteomes of poikilothermal and homoiothermal organisms; (3) the prospects of proteomic analysis of model and non-model objects, as well as (4) the role of the Human Proteome Project, which provided an incentive for the development of proteomic studies of other groups of organisms; the final section is devoted to evolutionary applications of proteomics. The given examples demonstrate the effectiveness of proteomic technologies in solving the problems of ecology and evolution. Proteomics can be both an independent tool and an additional link in a comprehensive analysis of ecosystems and a powerful incentive for the development of old and the birth of new hypotheses and theories.

Keywords: ecological proteomics, hydrobionts, evolution

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ СУЩЕСТВОВАНИЯ МОРСКИХ ОРГАНИЗМОВ В ЗОНАХ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ

А. А. Солдатов^{1,2}

¹ФГБУН ФИЦ “Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН”

292011 г. Севастополь, просп. Нахимова 2, e-mail: alekssoldatov@yandex.ru

²ФГАОУ ВО Севастопольский госуниверситет, 299053 г. Севастополь, ул. Университетская 33

Рассматриваются теоретические аспекты адаптации морских организмов к зонам острой гипоксии. Показано, что гипоксические акватории оказывают комплексное действие на организм гидробионтов, которое проявляется в сочетании следующих факторов: острой гипоксии; гипотермии; гипербарии и гиподинамии. Ведущим среди них является острый дефицит кислорода, значительно ограничивающий энергетический обмен организма. Физиологические и молекулярные системы донных видов рыб изначально ориентированы на функционирование в условиях внешней гипоксии, гипотермии и пониженных скоростей энергетического обмена. Это позволяет рассматривать эту группу организмов как перспективную в освоении зон острой гипоксии. Организм пелагических рыб функционально ориентирован на высокий уровень метаболических процессов, но при этом располагает системами, позволяющими ему адаптироваться к дефициту кислорода, низким температурам и ограниченной подвижности. При соответствующей направленности естественного отбора можно ожидать, что отдельные виды высокоподвижных рыб смогут существовать в условиях острого дефицита кислорода.

Ключевые слова: зоны острой гипоксии, гипотермия, гипербария, морские организмы.

DOI: 10.24411/0320-3557-2019-10024

ВВЕДЕНИЕ

Кислород является важнейшей составляющей гидрохимического комплекса факторов морской среды, ограничивающей распространение организмов и влияющей на видовое разнообразие их сообществ. Ограничение водообмена, эвтрофикация, связанная с антропогенной нагрузкой на водоемы, являются основными причинами, приводящими к возникновению зон устойчивой гипоксии (oxygen-minimum zones или OMZ) [Joyce, 2000]. В последнее время это явление все чаще захватывает высокопродуктивные шельфовые зоны и открытые акватории Мирового океана, приводя к качественной трансформации существующих экосистем [McEnroe et al., 1998; Joyce, 2000; Duncombe-Rue et al., 2000]. Особый интерес для изучения представляют организмы образующие здесь устойчивые экосистемы, общим свойством для всех трофических уровней которых является толерантность к экстремальным формам гипоксии (концентрация кислорода менее 0.5 мг л⁻¹) [Fenchel, Finlay, 1995; Levin, 2002; Stoeck et al., 2003; Rabalais et al., 2010; El Albani et al., 2010; Danovaro et al., 2010].

Оценка гидрологического и гидрохимического режима этих вод показала, что наряду с экстремально низкой концентрацией кислорода в воде общим для них является также сравнительно низкие температуры. По результатам наблюдений в гипоксических зонах они не превышают 10°C. В большинстве случаев это температуры 4–6°C [Joyce, 2000]. Следует также отметить, что гипоксические акватории в Мировом океане обычно располагаются на значи-

тельных глубинах. Чаще всего – 400–1500 м, реже – 150–300 м [McEnroe et al., 1998; Joyce, 2000; Duncombe-Rue et al., 2000]. Наблюдения, выполненные с борта исследовательских судов и подводных аппаратов, показали, что большинство гидробионтов (кальмары, рыбы), находящихся в гипоксических акваториях, малоподвижны [Kuharev, 1998]. Для них характерны преимущественно вертикальные перемещения, связанные с потреблением пищи. Горизонтальные миграции выражены слабо.

Таким образом, существование гидробионтов в гипоксических акваториях требует учета значительного комплекса факторов:

- острой гипоксии;
- низких температур (гипотермия);
- повышенного гидростатического давления (гипербария);
- ограниченной подвижности (гиподинамия).

Ведущим среди них, безусловно, является острый дефицит кислорода, который предполагает значительное ограничение энергетического обмена организма. Остальные факторы (гипотермия, гипербария) имеют сходную функциональную ориентацию и хорошо сочетаются с действием гипоксии. Гиподинамия скорее является следствием действия выше перечисленных факторов.

Анализ механизмов развития и компенсации тканевой гипоксии при адаптации морских организмов к рассмотренным выше факторам позволяет составить представление о

функциональных и молекулярных основах существования морских организмов в гипоксиче-

ских акваториях Мирового океана. Этим аспектам проблемы и посвящен настоящий обзор.

ЭКЗОГЕННАЯ ГИПОКСИЯ

Действие экзогенной гипоксии на организм реализуется через развитие артериальной гипоксемии [Soulie et al., 1991; Williams et al., 1992]. Напряжение кислорода в артериальной крови устойчиво снижается. Падает гистогематический градиент по PO_2 , что существенно ограничивает диффузию кислорода и приводит к увеличению числа гипоксических и аноксических зон в тканевых структурах (Солдатов, 2018). Одновременно уменьшается насыщение гемоглобина кислородом и величина массопереноса кислорода артериальной кровью. Все это приводит к усилению анаэробных процессов в тканях. Гипоксия наряду с усилением гликолитических процессов приводит к усилению продукции NH_4^+ [Шульман и др., 1993; Светличный и др., 1994; Chew et al., 2005], снижению пула свободных аминокислот и накоплению аланина и сукцината в тканях [Hughes, Johnston, 1978; Waarde, 1988]. Содержание малата, оксалоацетата при этом снижается, а уровень α -кетоглутарата растет, что свидетельствует об усилении распада белков и процессов переаминирования отдельных аминокислот (глутамата и аланина) [Mommensen et al., 1980]. В основу метаболической схемы, объясняющей наблюдаемые изменения, положены сукцинаттиокиназная и фумаратредуктазная реакции, ключевая роль в которых принадлежит аланин- и аспартаминотрансферазам (АлАТ, АсАТ) [Owen, Hochachka, 1974].

Особый интерес представляют процессы, позволяющие организму утилизировать следы кислорода. Они развиваются преимущественно на уровне молекулярных систем.

У рыб, устойчивых к дефициту кислорода обнаружен гемоглобин, сочетающий высокое сродство к кислороду с повышенной чувствительностью к рН (эффекты Бора и Рута) [Солдатов и др., 2004]. Он не только насыщается при низком PO_2 в среде, но и более эффективно разряжается в условиях тканевого ацидоза. Показано, что в условиях экспериментальной гипоксии его содержание в крови рыб существенно возрастает [Солдатов и др., 2004].

Установлено, что дыхательная цепь митохондрий рыб и круглоротых, устойчивых к

гипоксии, имеет нескомпенсированный тип стехиометрии с явным преобладанием содержания цитохромов терминальной группы – aa_3 [Савина, 1992; Soldatov, 1996; Soldatov, Savina, 2008; Солдатов, Парфенова, 2014]. Подобная организация имеет явную адаптивную направленность, так как позволяет функционировать митохондриям в условиях тканевой гипоксии. Не следует исключать из внимания и коррекцию K_m цитохромоксидазы в сторону увеличения ее сродства к кислороду. Случаи оксиконформизма на субклеточном уровне описаны для многих гидробионтов [Tschischka et al., 2000; Buchner et al., 2001].

В тканях, испытывающих нехватку кислорода, практически всегда повышается суммарное содержание липидов [Weinstein et al., 1997; O'Brien, Sidell, 2000]. Принимая во внимание, что растворимость кислорода в липидах в 4 раза выше, чем в водной цитоплазме [Londrville, Sidell, 1990] можно допустить, что данная реакция облегчает диффузию кислорода на уровне гистогематического барьера и его распределение в ткани. Рост диффузионной способности мышечной ткани в отношении кислорода на фоне повышения содержания липидов в условиях тканевой гипоксии показан для ряда костистых рыб [Солдатов, 2018].

Рассмотренный комплекс компенсационных реакций позволяет поддерживать окислительный метаболизм в ткани, несмотря на острую нехватку кислорода и, по-видимому, реализуется в организме гидробионтов в условиях острой гипоксии. Он развивается на фоне усиливающихся анаэробных процессов, так как в условиях гипоксии растет число аноксических зон в тканевых структурах [Soldatov, 1996; Солдатов, Парфенова, 2014]. Последнее является причиной снижения аденилатного потенциала тканей [Dorigatti et al., 1997; Moraes et al., 1997 a,b; Soldatov et al., 2010]. Это должно сказываться, прежде всего, на скелетных мышцах и приводить к ограничению двигательной активности особей, что в действительности и имеет место в гипоксических акваториях.

ГИПОТЕРМИЯ

Низкие температуры хорошо сочетаются с действием внешней гипоксии, так как понижают интенсивность энергетического обмена у гидробионтов и облегчают тем самым процесс их адаптации к гипоксическим акваториям.

Единственным ограничением является устойчивость организма к гипотермии, которая основывается на способности его молекулярных систем функционировать в условиях низких температур. Поэтому определенными преимуществами

ществами в освоении зон острой гипоксии могут пользоваться эвритермные и холодолюбивые виды. При чем это качество должно распространяться не только на взрослых особей, но и на их гаметы, эмбриональные и личиночные стадии развития. Только в этом случае вид сможет существовать в зонах острого дефицита кислорода. В противном случае размножение и ранние этапы онтогенеза должны протекать в оксифильных прогреваемых акваториях. Как уже отмечалось, большинство гидробионтов используют зоны острой гипоксии исключительно для нагула, так как размножение и развитие вида в целом в этих водах невозможно [McEnroe et al., 1998; Kuharev, 1998].

Установлено, что низкие температуры не только не способствуют, а, напротив, осложняют процесс адаптации теплолюбивых видов рыб к дефициту кислорода. Они оказывают негативное влияние на системы кислородного обеспечения организма, приводя к развитию тканевой гипоксии. В основе этого действия

лежат два процесса [Солдатов, 2010; Солдатов, Парфенова, 2011]:

- чрезмерная вазоконстрикция сосудов микроциркуляторного русла;
- крайне высокий тепловой эффект реакции оксигенации гемоглобина в области низких температур.

Однако при температурах воды, близких к 5°C, был выявлен ряд процессов компенсационного порядка [Солдатов, 2010; Солдатов, Парфенова, 2011]. Это позволяет говорить о том, что теплолюбивые виды способны адаптироваться к низким температурам. Отсюда следует, что в отличие от эвритермных и холодолюбивых рыб, процесс адаптации к зонам острой гипоксии у теплолюбивых видов может носить более сложный характер. Их организм вынужден учитывать не один, а два фактора: гипоксию и гипотермию. Следует также отметить, что на эти процессы будет накладываться и фактор ограничения подвижности.

ГИПЕРБАРИЯ

Известно, что дефицит кислорода возникает обычно там, где отсутствует активный водообмен [Joуce, 2000]. Такая ситуация чаще складывается на значительных глубинах. Поэтому существование в гипоксических зонах Мирового океана требует от организма гидробионтов учета помимо гипоксии, гипотермии и этого фактора. Анализ имеющихся публикаций позволяет прийти к заключению о том, что метаболические эффекты гипербарии близки к отмеченным для гипоксии и гипотермии.

Гипербария угнетает окислительный метаболизм и энергетическую продукцию организма гидробионтов (рыбы, ракообразные) [Sebert et al., 1993; 1997; 1998]. В тканях снижается содержание АТФ, падает активность цитохромоксидазы. Реакция фактически развивается на начальных этапах адаптационного процесса. Длительное содержание животных в условиях повышенного давления (30 сут) приводит к частичной компенсации, отмеченных выше изменений. В тканях восстанавливается ресурс АТФ и активности ряда ферментов, в том числе и цитохромоксидазы.

Гипербария индуцирует течение анаэробных процессов в тканевых структурах гидробионтов [Sebert et al., 1993; 1997; 1998]. Это выражается в увеличении активности лактадегидрогеназы, снижении содержания гликогена на фоне активного использования глюкозы тканями. Отмечено, что данный фактор способен повышать сродство лактадегидрогеназы к пирувату [Baldwin et al., 1975]. Анаэробная ориентация метаболизма сохраняется

у гидробионтов и в условиях длительной адаптации к повышенному давлению. Подвижность организмов при этом, также как при гипоксии и гипотермии, ограничивается.

Таким образом, гипоксические акватории Мирового океана оказывают комплексный эффект на организм гидробионтов. Он выражается в сочетанном действии гипоксии, гипотермии и гипербарии. Наиболее жесткое влияние оказывает дефицит кислорода. Действие же гипотермии и гипербарии не является решающим. Необходимо отметить, что функциональные и метаболические эффекты каждого отдельно взятого фактора близки и выражаются в снижении энергетических трат, переориентации метаболизма на использование анаэробных источников энергии, ограничении двигательной активности организмов. Взаимно дополняя друг друга, они облегчают адаптационный процесс в целом.

Гипоксические зоны являются более проблемными акваториями, расположенные на мелководных участках, нежели на морских глубинах. Адаптация к ним должна протекать при более высоких температурах, отсутствии повышенных давлений и достаточно динамичном гидрохимическом режиме (приливы, штормы). Гидробионтам необходимо сохранять сравнительно высокую скорость энергетического обмена в среде с практически отсутствием кислорода. В этом следует усматривать одну из основных причин ограниченного проникновения организмов высших трофических уровней в гипоксические акватории мелководий.

ОБЪЕКТЫ КОЛОНИЗАЦИИ ЗОН ГИПОКСИИ (донные рыбы)

Сравнительная оценка кислородных режимов скелетных мышц морских рыб и механизмов их функциональной коррекции показала, что наиболее радикальные отличия существуют между представителями донной и пелагической ихтиофауны [Soldatov, 1996; Солдатов, Парфенова, 2014; Солдатов, 2018 а,б]. Они позволяют определить наиболее перспективных объектов колонизации зон острой гипоксии.

Придонные слои воды обычно характеризуются отсутствием активного перемешивания водных масс. Поэтому организмы, обитающие в этих условиях, практически постоянно сталкиваются с дефицитом кислорода, а также относительно низкими температурами. Это одни из ведущих факторов естественного отбора, определяющие существование донных сообществ. Дефицит кислорода и низкие температуры снижают энергетический потенциал тканей гидробионтов. Поэтому большинство из них ведут малоподвижный образ жизни и не совершают значительных горизонтальных миграций.

Как видно, донные экотопы фактически воспроизводят условия зон острой гипоксии. Отличия носят в основном количественный характер. Степень гипоксии и гипотермии здесь менее выражена. Организмы также не сталкиваются с влиянием повышенных давлений.

Анализ кислородного гомеостаза скелетных мышц донных рыб показал, что их молекулярные и физиологические системы ориентированы на работу с низкими концентрациями кислорода [Soldatov, 1996; Солдатов, Парфенова, 2014]. В сравнении с пелагическими видами PO_2 в артериальной крови у них снижено. Как уже отмечалось, это является в основном следствием двух причин.

- Существование в придонных слоях воды с низкой концентрацией кислорода фактически соответствует хроническим формам респираторной гипоксии и сопровождается падением артериального PO_2 .

- Ограничение подвижности снижает роль таранного типа вентиляции жаберной полости, который используют подвижные виды рыб [Кляшторин, 1982]. Это существенно повышает энергетическую стоимость дыхания и делает работу жаберного насоса менее эффективной. Следствием этого также должно быть снижение артериального PO_2 .

Артериальная гипоксемия приводит к увеличению числа гипоксических и аноксических зон в мышечной ткани донных рыб [Soldatov, 1996; Солдатов, Парфенова, 2014]. Это,

с одной стороны, усиливает анаэробные процессы, а, с другой стороны, переориентирует дыхательную цепь митохондрий на работу с низкими величинами PO_2 . Содержание терминальной группы цитохромов (aa_3) существенно повышается, а дыхательная цепь приобретает некомпенсированный тип организации [Soldatov, 1996; Солдатов, Парфенова, 2014]. Анаэробные процессы, реализуемые в тканях донных рыб, обычно исключают накопление токсических соединений (лактат) и переводят его в этанол, аланин, CO_2 , глюкозу, жиры [Mommensen et al., 1980; Waarde, 1988; Waversveld et al., 1989; Raaij et al., 1996; Bidinotto et al., 1997; Plante et al., 1998].

Важным следствием существования рыб в придонных слоях является рост сродства гемоглобина к кислороду. Практически у всех изученных в настоящей работе донных рыб величина P_{50} была ниже, чем у пелагических [Солдатов, Парфенова, 2011]. Это позволяет крови насыщаться кислородом при низком PO_2 в среде. Гемоглобины при этом обладали низкой чувствительностью к рН (эффект Бора). Степень кооперативного взаимодействия субъединиц (коэффициент Хилла) у них также была снижена. У некоторых видов (бычок-кругляк) был обнаружен гемоглобин, сочетающий высокое сродство к кислороду с повышенной чувствительностью рН, функциональная роль которого существенно повышалась в условиях острой гипоксии [Солдатов и др., 2004].

В клеточных системах (эритроциты) донных рыб в условиях острой гипоксии развивалась группа процессов, названная «метаболическим арестом» [Hochachka, 1986]. Клетки сохраняли баланс одновалентных катионов (K^+ , Na^+) на цитоплазматической мембране, ресурс АТФ на фоне снижения активностей K^+ , Na^+ -АТФ-азы и гексокиназы, что, по-видимому, отражает их способность регулировать число функционирующих каналов [Солдатов и др., 2010].

Необходимо отметить, что среди донных рыб много эвритермных и холодолюбивых видов. Многие из них не имеют плавательного пузыря, то есть, способны существовать при повышенном гидростатическом давлении. Все это говорит о том, что представители донной ихтиофауны функционально ориентированы на существование в акваториях с низким содержанием кислорода. Поэтому их следует рассматривать как перспективную группу организмов, способную колонизировать зоны

острой гипоксии. Наблюдения, проведенные в этих районах, подтверждают эти положения:

ОБЪЕКТЫ КОЛОНИЗАЦИИ ЗОН ГИПОКСИИ (пелагические рыбы)

Пелагические виды рыб характеризуется высокой подвижностью и способны перемещаться на значительные расстояния. Многим видам свойственны протяженные миграции. Они практически не сталкиваются с дефицитом кислорода. Их организм функционально ориентирован на высокую интенсивность энергетического обмена, которая в 3–7 раз выше, чем у представителей донной ихтиофауны [Солдатов, 2018a]. Поэтому пелагические виды относят к оксифильной группе организмов. Их физиологические и молекулярные системы обеспечивают транспорт и утилизацию значительных количеств кислорода.

- Величины массопереноса кислорода артериальной кровью у пелагических рыб в 2–8 раз выше, чем у представителей донной ихтиофауны. В основе этого лежит высокая скорость объемного тканевого кровотока (мышцы) и повышенная кислородная емкость крови [Солдатов, 2018a].
- Гемоглобины отличаются низким сродством к кислороду, что облегчает процесс деоксигенации крови на тканевом уровне и способствует высвобождению повышенных количеств кислорода [Soldatov, 1997].
- Скелетные мышцы пелагических рыб имеют высокую плотность капилляров и повышенное содержание миоглобина и цитохромов. Дыхательная цепь митохондрий при этом отличается скомпенсированным типом стехиометрии цитохромов. Это свидетельствует о том, что тканевые структуры подвижных рыб не сталкиваются с дефицитом кислорода [Soldatov, 1996; Солдатов, Парфенова, 2014].

Приведенная выше группа фактов позволяет говорить о том, что представители пелагической ихтиофауны не должны встречаться в гипоксических акваториях. Вместе с тем, факты свидетельствуют об обратном. Так, в Адском заливе на глубинах 150–300 м при концентрации кислорода в воде менее 0.5 мг л^{-1} обнаружены значительные скопления скумбрии (*Scomber japonicus*) и ставриды (*Trachurus sp.*) [Kuharev, 1998]. Данные факты пока трудно объяснимы, так как известно, что эти виды рыб в условиях эксперимента не выдерживают снижения насыщения воды кислоро-

здесь явно доминируют малоподвижные виды рыб [Kuharev, 1998; McEnroe et al., 1998].

дом менее, чем на 40%, что было показано и настоящей работе.

Вместе с тем, при изучении процесса адаптации пелагических рыб (кефаль-сингиль) к условиям гипоксии была выявлена группа компенсационных процессов, которая функционально приближала их организм к донным видам рыб.

- В дыхательной цепи митохондрий скелетных мышц отмечался рост содержания цитохромов терминальной группы (aa_3) и снижение уровня цитохрома b , что приближало организацию цепи к некомпенсированному типу и отражало процесс адаптации к низкому PO_2 [Soldatov, Savina, 2008].
- Происходил рост сродства крови к кислороду на основе перестройки гетерогенной структуры гемоглобина. Одновременно понижалась чувствительность пигмента к рН. Это способствовало насыщению крови кислородом при низком PO_2 в воде [Soldatov, 1997].

Сходные процессы были выявлены при адаптации пелагических рыб (кефали: пиленгас и сингиль) к условиям гиподинамии и гипотермии, которые, как отмечалось выше, дополняют условия гипоксических акваторий [Солдатов, Парфенова, 2009; 2011]. Все это говорит о том, что представители пелагической ихтиофауны располагают молекулярными и физиологическими системами, позволяющими осуществлять процесс адаптации к внешней гипоксии. Однако это требует радикальной перестройки метаболизма с переориентацией его на анаэробные источники энергии и низкий уровень окислительных процессов в тканях. Безусловно, этот процесс носит более сложный и продолжительный характер, чем у представителей донной ихтиофауны. Можно предположить, что легче всего он будет протекать у холодолюбивых пелагических рыб, организм которых адаптирован к низким температурам и соответственно к пониженной интенсивности метаболизма.

Таким образом, гипоксические акватории оказывают комплексное действие на организм гидробионтов, которое проявляется в сочетании следующих факторов: острой гипоксии; гипотермии; гипербарии и гиподинамии. Ведущим среди них является острый дефицит кислорода, значительно ограничивающий

энергетический обмен организма. Физиологические и молекулярные системы донных видов рыб изначально ориентированы на функционирование в условиях внешней гипоксии, гипотермии и пониженных скоростей энергетического обмена. Это позволяет рассматривать эту группу организмов как перспективную в освоении зон острой гипоксии. Организм пелагических рыб функционально ориентирован

на высокий уровень метаболических процессов, но при этом располагает системами, позволяющими ему адаптироваться к дефициту кислорода, низким температурам и ограниченной подвижности. При соответствующей направленности естественного отбора можно ожидать, что отдельные виды высоко подвижных рыб смогут существовать в условиях острого дефицита кислорода.

Работа выполнена по теме государственного задания ФИЦ ИнБЮМ РАН "Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты существования гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом". Рег. номер АААА-А 18-118021490093-4.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Кляшторин Л.Б. Водное дыхание и кислородные потребности рыб. М.: Легкая и пищ. пром-сть, 1982. 168 с.
- Савина М.В. Механизмы адаптации тканевого дыхания в эволюции позвоночных. С.-Петербург: Наука, 1992. 200 с.
- Светличный Л.С., Юнева Т.В., Шульман Г.Е., Хаусман Дж. А. Использование белка в энергетическом обмене ветвистоусого рачка *Moina macrura* при различном содержании кислорода в воде // Докл. РАН. 1994. Т. 337, № 3. С. 428–430.
- Солдатов А.А. Влияние экспериментальной гипотермии на состояние капиллярной сети скелетных мышц морских рыб // Совр. пробл. физиол. биохим. водных организмов. Сб. научн. статей. Т. 1. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2010. С. 278–282.
- Солдатов А.А. Кислородный режим скелетных мышц костистых рыб и механизмы его функциональной коррекции (краткий обзор) // Ж. общей биологии. 2018а. Т. 79, № 6. С. 471–481.
- Солдатов А.А. Напряжение кислорода в крови, скелетных мышцах и особенности тканевого метаболизма у кефали-сингиля (*Liza aurata* Risso, 1810) в условиях острой экспериментальной гипоксии // Актуальные вопросы биологической физики и химии. 2018б. Т. 3, № 4. С. 724–729.
- Солдатов А.А., Парфенова И.А. Развитие тканевой гипоксии у кефали-пиленгаса в условиях садкового содержания // Рыбное хозяйство. 2009. Вып. 66. С. 180–184.
- Солдатов А.А., Парфенова И.А. Связывание кислорода кровью морских рыб в условиях экспериментальной гипотермии // Укр. биох. журн. 2011. Т. 83, № 1. С. 77–82.
- Солдатов А.А., Парфенова И.А. Стехиометрия цитохромов и напряжение кислорода в скелетных мышцах морских рыб // Укр. биох. журн. 2014. Т. 96, № 2. С. 60–67.
- Солдатов А.А., Парфенова И.А., Коношенко С.А. Гемоглобиновая система черноморского бычка-кругляка в условиях экспериментальной гипоксии // Укр. биох. журн. 2004. Т. 76, № 3. С. 85–90.
- Солдатов А.А., Парфенова И.А., Новицкая В.Н. Содержание одновалентных катионов и АТФ в эритроцитах морских рыб при экспериментальной гипоксии // Укр. биох. журн. 2010. Т. 82, № 2. С. 36–41.
- Шульман Г.Е., Аболмасова Г.И., Столбов А.Я. Использование белка в энергетическом обмене гидробионтов // Усп. совр. биол. 1993. Т. 113, № 5. С. 576–586.
- Baldwin J., Storey K.B., Hochachka P.W. Lactate dehydrogenase M4 of an abyssal fish: strategies for function at low temperature and high pressure // Comp. Biochem. Physiol. 1975. Vol. 52B, № 1. P. 19–23.
- Bidinotto P.M., Moraes G., Souza R.H.S. Hepatic glycogen and glucose in eight tropical freshwater teleost fish: A procedure for field determinations of micro samples // Bol. Tec. Cepta. 1997. Vol. 10. P. 53–60.
- Buchner T., Abele D., Poertner H.O. Oxyconformity in the intertidal worm *Sipunculus nudus*: the mitochondrial background and energetic consequences // Comp. Biochem. Physiol. 2001. Vol. 129, № 1. P. 109–120.
- Chew S.F., Gan J., Ip Y.K. Nitrogen metabolism and excretion in the swamp eel, *Monopterus albus*, during 6 or 40 days of estivation in mud // Physiol. Biochem. Zool. 2005. Vol. 78, № 4. P. 620–629.
- Danovaro R., Dell'Anno A., Pusceddu A. The first metazoa living in permanently anoxic conditions // BMC Biol. 2010. Vol. 8, № 1. P. 30.
- Dorigatti M., Krumschnabel G., Schwarzbaum P.J., Wieser W. Effects of hypoxia on energy metabolism in goldfish hepatocytes // Comp. Biochem. Physiol. 1997. Vol. 117B, № 1. P. 151–158.
- Duncombe-Rae C.M., Bailey G.W., Neumann T., Plas A., Mouton D., Filipe V., Schuffenhauer I., Franz F., Nelson G. Low oxygen expression and the poleward undercurrent on the Angola-Namibia shelf, July 1999 // 10th SAMSS, 2000: Wilderness (South Africa), 22–26 Nov 1999. Abstracts, 2000. P. 1.
- El Albani A., Bengtson S., Canfield D.E. et al. Large colonial organisms with coordinated growth in oxygenated environments // Nature. 2010. Vol. 466, № 7302. P. 100–104.
- Fenchel T., Finlay B. J. Ecology and evolution in anoxic worlds. Oxford: Oxford University Press, 1995. 276 p.
- Hochachka P. Defence strategies against hypoxia and hypothermia // Science. 1986. Vol. 231. P. 324–241.
- Hughes G.M., Johnston I.A. Some responses of the electric ray (*Torpedo marmorata*) to low ambient oxygen tensions // J. Exp. Biol. 1978. Vol. 73. P. 107–117.

- Joyce S. The dead zones: oxygen-starved coastal waters // Environ. Health Perspective. 2000. Vol. 108, № 3. P. A120–A125.
- Kuharev N. Extraordinary oxygen regime as a phenomenon of the Arabian upwelling: Life and concentrations of fish in the hypoxia zone – rule or exception? // Int. Conf. for the Paradi Assoc. and the Fish. Soc. of Africa, Grahamstown (South Africa), 13–18 Sept 1998. Abstracts, 1998. P. 299.
- Levin L.A. Oxygen minimum zone influence on the community structure of deep-sea benthos // Fish physiology, toxicology, and water quality: Proceedings of the 6th international symposium (La Paz). 2002. P. 121.
- Londrville R.L., Sidell B.D. Ultrastructure of aerobic muscle in antarctic fishes may contribute to maintenance of diffusive fluxes // J. Exp. Biol. 1990. Vol. 150. P. 205–220.
- McEnroe M., Woodhead P., Crocker C. Life in the extreme environment of an upwelling system physiological attributes of fishes living in extreme hypoxia in the nutrient-rich Benguela system // 33 Europ. Mar. Biol. Symp.: Abstracts, Wilhelmshaven. Germany, 1998. P. 51.
- Mommsen Th. P., French C.J., Hochachka P.W. Sites and patterns of protein and amino acid utilization during spawning migration of salmon // Can. J. Zool. 1980. Vol. 58. P. 1785–1799.
- Moraes G., Chippari A.R., Guerra C.D.R. et al. Immediate changes on metabolic parameters of the freshwater teleost fish *Piaractus mesopotamicus* (PACU) under severe hypoxia // Bol. Tec. Cepta. 1997a. Vol. 10. P. 45–52.
- Moraes G., Choudhuri J.V., Souza R.H.S. Metabolic strategies of *Hypostomus regani* (Cascudo), a freshwater teleost fish under extreme environmental hypoxia // Bol. Tec. Cepta. 1997b. Vol. 10. P. 35–44.
- O'Brien K.M., Sidell B.D. The interplay among cardiac ultrastructure, metabolism and the expression of oxygen-binding proteins in Antarctic fishes // J. Exp. Biol. 2000. Vol. 203, № 8. P. 1287–1297.
- Owen T.G., Hochachka P.W. Purification and properties of dolphin muscle aspartate and alanine transaminases and their possible roles in the energy metabolism of diving mammals // Biochem. J. 1974. Vol. 143. P. 541–553.
- Plante S., Chabot D., Dutil J. Hypoxia tolerance in Atlantic cod // J. Fish Biol. 1998. Vol. 53, № 6. P. 1342–1356.
- Raaij M.T.M., Thillart G.E.E.J.M., Vianen G.J., Pit D.S.S., Balm P.H.M., Steffens A.B. Substrate mobilization and hormonal changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* L.) and common carp (*Cyprinus carpio* L.) during deep hypoxia and subsequent recovery // J. Comp. Physiol. 1996. Vol. 166, № 7. P. 443–452.
- Rabalais N.N., Diaz R.J., Levin L.A. et al. Dynamics and distribution of natural and human-caused hypoxia // Biogeosciences. 2010. Vol. 7, № 2. P. 585–619.
- Sebert P., Peragon J., Barroso J.B. et al. High hydrostatic pressure (101 ATA) changes the metabolic design of yellow freshwater eel muscle // Comp. Biochem. Physiol. 1998. Vol. 121B, № 2. P. 195–200.
- Sebert P., Simon B., Barthelemy L. Hydrostatic pressure induces a state resembling histotoxic hypoxia in *Anguilla anguilla* // Comp. Biochem. Physiol. 1993. Vol. 105A, № 2. P. 255–258.
- Sebert P., Simon B., Pequeux A. Effects of hydrostatic pressure on energy metabolism and osmoregulation in crab and fish // Comp. Biochem. Physiol. 1997. Vol. 116A, № 4. P. 281–290.
- Soldatov A.A. Cytochrome System and Oxygen Tension in Muscle Tissue of Salt-Water Fish with Different Natural Activity // J. Evolutionary Biochem. Physiol. 1996. Vol. 32, № 2. P. 112–115.
- Soldatov A.A. Oxygen-Dissociation Properties of Blood and Intraerythrocytic Medium Composition in Sea Fish with Different Motor Activity // J. Evolutionary Biochem. Physiol. 1997. Vol. 33, № 6. P. 534–539.
- Soldatov A.A., Savina M.V. Effect of hypoxia on the content and stoichiometry of cytochromes in muscle of the gray mullet *Liza aurata* // J. Evolutionary Biochem. Physiol. 2008. Vol. 44, № 5. P. 599–604.
- Soldatov A.A., Sysoeva I.V., Sysoev A.A., Andreenko T.I. Adenylate System of Tissues of the Bivalve Mollusk (*Anadara inaequalis*) under Experimental Anoxia // Hydrobiol. J. 2010. Vol. 46, № 5. P. 60–67.
- Soulier P., Peyraud-Waitzenegger M., Peyraud C. Respiratory and cardiovascular effects of hypoxia in the european eel // Arch. Int. Physiol., Biochem. et Biophys. 1991. Vol. 99, № 5. P. 124–132.
- Stoeck T., Taylor T., Epstein S.S. Novel eukaryotes from the permanently anoxic Cariaco Basin (Caribbean Sea) // Appl. Environ. Microbiol. 2003. Vol. 69, iss. 9. P. 5656–5663.
- Tschischka K., Abele D., Poertner H.O. Mitochondrial oxygen conformity and cold adaptation in the polychaete *Nereis pelagica* and the bivalve *Arctica islandica* from the Baltic and White Seas // J. Exp. Biol. 2000. Vol. 203, № 21. P. 3355–3368.
- Waarde A. Biochemistry of non-protein nitrogenous compounds in fish including the use of amino acids for anaerobic energy production // Comp. Biochem. Physiol. 1988. Vol. 91B, № 2. P. 207–228.
- Waversveld J., Addink A.D.F., Thillart G. The anaerobic energy metabolism of goldfish determined by simultaneous direct and indirect calorimetry during anoxia and hypoxia // J. Comp. Physiol. 1989. Vol. 159B, № 3. P. 263–268.
- Weinstein J.E., Oris J.T., Taylor D.H. An ultrastructural examination of the mode of UV-induced toxic action of fluoranthene in the fathead minnow, *Pimephales promelas* // Aquat. Toxicol. 1997. Vol. 39, № 1. P. 1–22.
- Williams E.M., Glass M.L., Heisler N. Blood oxygen tension and content in carp, *Cyprinus carpio* L., during hypoxia and methaemoglobinemia // Aquacult. Fish. Manag. 1992. Vol. 23, № 6. P. 679–690.

REFERENCE

- Baldwin J., Storey K.B., Hochachka P.W. Lactate dehydrogenase M4 of an abyssal fish: strategies for function at low temperature and high pressure // Comp. Biochem. Physiol. 1975. Vol. 52B, № 1. P. 19–23.
- Bidinotto P.M., Moraes G., Souza R.H.S. Hepatic glycogen and glucose in eight tropical freshwater teleost fish: A procedure for field determinations of micro samples // Bol. Tec. Cepta. 1997. Vol. 10. P. 53–60.

- Buchner T., Abele D., Poertner H.O. Oxyconformity in the intertidal worm *Sipunculus nudus*: the mitochondrial background and energetic consequences // *Comp. Biochem. Physiol.* 2001. Vol. 129, № 1. P. 109–120.
- Chew S.F., Gan J., Ip Y.K. Nitrogen metabolism and excretion in the swamp eel, *Monopterus albus*, during 6 or 40 days of estivation in mud // *Physiol. Biochem. Zool.* 2005. Vol. 78, № 4. P. 620–629.
- Danovaro R., Dell'Anno A., Pusceddu A. The first metazoa living in permanently anoxic conditions // *BMC Biol.* 2010. Vol. 8, № 1. P. 30.
- Dorigatti M., Krumschnabel G., Schwarzbaum P.J., Wieser W. Effects of hypoxia on energy metabolism in goldfish hepatocytes // *Comp. Biochem. Physiol.* 1997. Vol. 117B, № 1. P. 151–158.
- Duncombe-Rae C.M., Bailey G.W., Neumann T., Plas A., Mouton D., Filipe V., Schuffenhauer I., Franz F., Nelson G. Low oxygen expression and the poleward undercurrent on the Angola-Namibia shelf, July 1999 // 10th SAMSS, 2000: Wilderness (South Africa), 22–26 Nov 1999. Abstracts, 2000. P. 1.
- El Albani A., Bengtson S., Canfield D.E. et al. Large colonial organisms with coordinated growth in oxygenated environments // *Nature*. 2010. Vol. 466, № 7302. P. 100–104.
- Fenchel T., Finlay B. J. Ecology and evolution in anoxic worlds. Oxford: Oxford University Press, 1995. 276 p.
- Hochachka P. Defence strategies against hypoxia and hypothermia // *Science*. 1986. Vol. 231. P. 324–341.
- Hughes G.M., Johnston I.A. Some responses of the electric ray (*Torpedo marmorata*) to low ambient oxygen tensions // *J. Exp. Biol.* 1978. Vol. 73. P. 107–117.
- Joyce S. The dead zones: oxygen-starved coastal waters // *Environ. Health Perspective*. 2000. Vol. 108, № 3. P. A120–A125.
- Klyashtorin L.B. 1982. Vodnoe dykhanie i kislorodnye potrebnosti ryb. M. : Legkaya i pisch. Prom-st, 168 s.
- Kuharev N. 1998. Extraordinary oxygen regime as a phenomenon of the Arabian upwelling: Life and concentrations of fish in the hypoxia zone – rule or exception? // *Int. Conf. for the Paradi Assoc. and the Fish. Soc. of Africa*, Grahamstown (South Africa), 13–18 Sept 1998. Abstracts, P. 299.
- Levin L.A. 2002. Oxygen minimum zone influence on the community structure of deep-sea benthos // *Fish physiology, toxicology, and water quality: Proceedings of the 6th international symposium (La Paz)*. P. 121.
- Londrville R.L., Sidell B.D. 1990. Ultrastructure of aerobic muscle in antarctic fishes may contribute to maintenance of diffusive fluxes // *J. Exp. Biol.* Vol. 150. P. 205–220.
- McEnroe M., Woodhead P., Crocker C. 1998. Life in the extreme environment of an upwelling system physiological attributes of fishes living in extreme hypoxia in the nutrient-rich Benguela system // 33 *Europ. Mar. Biol. Symp.*: Abstracts, Wilhelmshaven, Germany. P. 51.
- Mommsen Th. P., French C.J., Hochachka P.W. 1980. Sites and patterns of protein and amino acid utilization during spawning migration of salmon // *Can. J. Zool.* Vol. 58. P. 1785–1799.
- Moraes G., Chippari A.R., Guerra C.D.R. et al. 1997a. Immediate changes on metabolic parameters of the freshwater teleost fish *Piaractus mesopotamicus* (PACU) under severe hypoxia // *Bol. Tec. Cepta*. Vol. 10. P. 45–52.
- Moraes G., Choudhuri J.V., Souza R.H.S. 1997b. Metabolic strategies of *Hypostomus regani* (Cascudo), a freshwater teleost fish under extreme environmental hypoxia // *Bol. Tec. Cepta*. Vol. 10. P. 35–44.
- O'Brien K.M., Sidell B.D. 2000. The interplay among cardiac ultrastructure, metabolism and the expression of oxygen-binding proteins in Antarctic fishes // *J. Exp. Biol.* Vol. 203, № 8. P. 1287–1297.
- Owen T.G., Hochachka P.W. 1974. Purification and properties of dolphin muscle aspartate and alanine transaminases and their possible roles in the energy metabolism of diving mammals // *Biochem. J.* Vol. 143. P. 541–553.
- Plante S., Chabot D., Dutil J. 1998. Hypoxia tolerance in Atlantic cod // *J. Fish Biol.* Vol. 53, № 6. P. 1342–1356.
- Raaij M.T.M., Thillart G.E.E.J.M., Vianen G.J., Pit D.S.S., Balm P.H.M., Steffens A.B. 1996. Substrate mobilization and hormonal changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* L.) and common carp (*Cyprinus carpio* L.) during deep hypoxia and subsequent recovery // *J. Comp. Physiol.* Vol. 166, № 7. P. 443–452.
- Rabalais N.N., Diaz R.J., Levin L.A. et al. 2010. Dynamics and distribution of natural and human-caused hypoxia // *Biogeosciences*. Vol. 7, № 2. P. 585–619.
- Savina M.V. 1992. Mekhanizmy adaptatsii tkanevogo dykhaniya v evolyutsii pozvonochnykh. S.-Peterburg: Nauka, 200 s.
- Sebert P., Peragon J., Barroso J.B. et al. 1998. High hydrostatic pressure (101 ATA) changes the metabolic design of yellow freshwater eel muscle // *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 121B, № 2. P. 195–200.
- Sebert P., Simon B., Barthelemy L. 1993. Hydrostatic pressure induces a state resembling histotoxic hypoxia in *Anguilla anguilla* // *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 105A, № 2. P. 255–258.
- Sebert P., Simon B., Pequeux A. 1997. Effects of hydrostatic pressure on energy metabolism and osmoregulation in crab and fish // *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 116A, № 4. P. 281–290.
- Soldatov A. A. 2010. Vliyanie eksperimentalnoy gipotermii na sostoyanie kapillyarnoy seti skeletnykh myshts morskikh ryb. // *Sovr. probl. fiziol. biokhim. vodnykh organizmov. Sb. nauchn. statey*. T. 1. Petrozavodsk: KarNTS RAN, S. 278–282.
- Soldatov A.A. 2018a Kislorodnyy rezhim skeletnykh myshts kostistykh ryb i mekhanizmy ego funktsionalnoy korrektsii (kratkiy obzor) // *ZH. obschey biologii*. T. 79, № 6. S. 471–481.
- Soldatov A.A. 2018b Napryazhenie kisloroda v krovi, skeletnykh myshtsakh i osobennosti tkanevogo metabolizma u kefali-singilya (*Liza aurata* Risso, 1810) v usloviyakh ostroy eksperimentalnoy gipoksii // *Aktualnye voprosy biologicheskoy fiziki i khimii*. T. 3, № 4. S. 724–729.

- Soldatov A.A. 1996. Cytochrome System and Oxygen Tension in Muscle Tissue of Salt-Water Fish with Different Natural Activity // J. Evolutionary Biochem. Physiol. Vol. 32, № 2. P.112–115.
- Soldatov A.A. 1997. Oxygen-Dissociation Properties of Blood and Intraerythrocytic Medium Composition in Sea Fish with Different Motor Activity // J. Evolutionary Biochem. Physiol. Vol. 33, № 6. P.534–539.
- Soldatov A.A., Parfenova I.A. 2009. Razvitie tkanevoy gipoksii u kefali-pilengasa v usloviyakh sadkovogo sodержaniya // Ribne gospodarstvo. Vip. 66. S. 180–184.
- Soldatov A.A., Parfenova I.A. 2011. Svyazyvanie kisloroda krovyu morskikh ryb v usloviyakh eksperimentalnoy gipotermii // Ukr. biokh. zhurn. T. 83, № 1. S. 77–82.
- Soldatov A.A., Parfenova I.A. 2014. Stekhiometriya tsitokhromov i napryazhenie kisloroda v skeletnykh myshtsakh morskikh ryb. //Ukr. biokh. zhurn. T. 96, № 2. S. 60–67.
- Soldatov A.A., Parfenova I.A., Konoshenko S.A. 2004. Gemoglobinovaya sistema chernomorskogo bychka-kruglyaka v usloviyakh eksperimentalnoy gipoksii // Ukr. biokh. zhurn. T. 76, № 3. S. 85–90.
- Soldatov A.A., Parfenova I.A., Novitskaya V.N. 2010. Soderzhanie odnovalentnykh kationov i ATR v eritrotsitakh morskikh ryb pri eksperimentalnoy gipoksii // Ukr. biokh. zhurn. T. 82, № 2. S. 36–41.
- Shulman G.E., Abolmasova G.I., Stolbov A. YA. 1993. Ispolzovanie belka v energeticheskom obmene gidrobiontov // Usp.sovr. boil. T. 113, № 5. S. 576–586.
- Soldatov A.A., Savina M.V. 2008. Effect of hypoxia on the content and stoichiometry of cytochromes in muscle of the gray mullet *Liza aurata* // J. Evolutionary Biochem. Physiol. Vol. 44, № 5. P.599–604.
- Soldatov A.A., Sysoeva I.V., Sysoev A.A., Andreenko T.I. 2010. Adenylate System of Tissues of the Bivalve Mollusk (*Anadara inaequalis*) under Experimental Anoxia // Hydrobiol. J. Vol. 46, № 5. P. 60–67.
- Soulier P., Peyraud-Waitzenegger M., Peyraud C. Respiratory and cardiovascular effects of hypoxia in the european eel // Arch. Int. Physiol., Biochem. et Biophys. 1991. Vol. 99, № 5. P. 124–132.
- Stoeck T., Taylor T., Epstein S.S. 2003. Novel eukaryotes from the permanently anoxic Cariaco Basin (Caribbean Sea) // Appl. Environ. Microbiol. Vol. 69, iss. 9. P. 5656–5663.
- Svetlichnyy L.S., Yuneva T.V., Shulman G.E., Khausman Dzh. A. 1994. Ispolzovanie belka v energeticheskom obmene vetvistousogo rachka *Moina macrura* pri razlichnom sodержanii kisloroda v vode // Dokl. RAN. T. 337, № 3. S. 428–430.
- Tschischka K., Abele D., Poertner H.O. 2000. Mitochondrial oxyconformity and cold adaptation in the polychaete *Nereis pelagica* and the bivalve *Arctica islandica* from the Baltic and White Seas // J. Exp. Biol. Vol. 203, № 21. P. 3355–3368.
- Waarde A. 1988. Biochemistry of non-protein nitrogenous compounds in fish including the use of amino acids for anaerobic energy production // Comp. Biochem. Physiol. Vol. 91B, № 2. P. 207–228.
- Waversveld J., Addink A.D.F., Thillart G. 1989. The anaerobic energy metabolism of goldfish determined by simultaneous direct and indirect calorimetry during anoxia and hypoxia // J. Comp. Physiol. Vol. 159B, № 3. P. 263–268.
- Weinstein J.E., Oris J.T., Taylor D.H. 1997. An ultrastructural examination of the mode of UV-induced toxic action of fluoranthene in the fathead minnow, *Pimephales promelas* // Aquat. Toxicol. Vol. 39, № 1. P. 1–22.
- Williams E.M., Glass M.L., Heisler N. 1992. Blood oxygen tension and content in carp, *Cyprinus carpio* L., during hypoxia and methaemoglobinemia // Aquacult. Fish. Manag. Vol. 23, № 6. P. 679–690.

FUNCTIONAL ASPECTS OF MARINE ORGANISMS EXISTENCE IN ACUTE HYPOXIA ZONES

A. A. Soldatov^{1,2}

¹FRC "A.O. Kovalevsky's Institute of Biology of the Southern Seas RAS"

292011 Sevastopol, Nakhimov Ave. 2, E-mail: alekssoldatov@yandex.ru

²Sevastopol State University, 299053 Sevastopol, ul. Universitetskaya Str. 73

Theoretical aspects of adaptation of marine organisms to zones of acute hypoxia are considered. It is shown that hypoxic waters have a complex effect on the organism of hydrobionts, which manifests itself in a combination of the following factors: acute hypoxia; hypothermia; hyperbaria and hypodynamia. Leading among them is an acute shortage of oxygen, significantly limiting the energy metabolism of the body. Physiological and molecular systems of bottom fish species are initially focused on functioning in conditions of external hypoxia, hypothermia and low rates of energy metabolism. This allows us to consider this group of organisms as promising in the development of zones of acute hypoxia. The organism of pelagic fish is functionally oriented to a high level of metabolic processes, but at the same time has systems that allow it to adapt to oxygen deficiency, low temperatures and limited mobility. With the appropriate direction of natural selection, it can be expected that certain species of highly mobile fish will be able to exist in conditions of acute oxygen deficiency.

Keywords: zones of acute hypoxia, hypothermia, hyperbaria, marine organisms

УЧАСТИЕ ЭРИТРОЦИТАРНОГО МАГНИЯ В СТРЕССОРНЫХ РЕАКЦИЯХ РЫБ**Р. А. Запруднова***Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: raz@ibiw.ru*

На леще (*Abramis brama* L.), серебряном карасе (*Carassius auratus gibelio* Bloch.) и линне (*Tinca tinca* L.), Рыбинского водохранилища изучали изменение концентрации магния в эритроцитах при действии стрессоров разного качества и количества. Концентрацию ионов магния анализировали на атомно-абсорбционном спектрометре AAS-1 фирмы Carl Zeiss (Германия) в абсорбционном режиме в воздушно-ацетиленовом пламени. Впервые на животных (на примере пресноводных рыб) выявлена зависимость изменения концентрации магния в эритроцитах от интенсивности стрессовой нагрузки разной природы. Слабые и средние по силе воздействия (эустресс или физиологический стресс) увеличивали концентрацию магния в эритроцитах, а те же факторы, но в более высоких дозах, а также комплексные воздействия сильных стрессоров (дистресс или патологический стресс) снижали содержания магния в эритроцитах. При эустрессе наблюдали также повышение сродства гемоглобина к кислороду и уменьшение потребления кислорода, а при дистрессе – сдвиг диссоционной кривой гемоглобина вправо и усиление газообмена. На основании проведенных исследований ионы магния в эритроцитах (как положительные модуляторы сродства гемоглобина к кислороду) предлагается рассматривать как один из молекулярных механизмов, регулирующих процессы газообмена, анаболизма и катаболизма рыб при стрессе. Особенно важна роль этих ионов в усилении анаболизма и, следовательно, роста и развития животных при действии не-сильных, непродолжительных стрессоров, т.е. при эустрессе или физиологическом стрессе. Однако перед гибелью рыб (в конце патологического стресса) при низкой концентрации магния в эритроцитах сродство гемоглобина к кислороду повышалось, а интенсивность газообмена снижалась. Вероятно, в этой ситуации определяющую роль в сдвиге диссоционной кривой влево играет уменьшение уровня АТФ – отрицательного модулятора сродства гемоглобина к кислороду – в связи с общим истощением организма. Концентрация магния в эритроцитах может служить индикатором состояния рыб, в частности, крайне низкий уровень магния в красных кровяных клетках всегда свидетельствует о временном или постоянном неблагополучии. Ослабленные, истощенные, больные животные не способны к ответной реакции по типу эустресса или физиологического стресса.

Ключевые слова: эритроцитарный магний, лещ, линь, карась, сродство гемоглобина к кислороду, интенсивность газообмена, эустресс, дистресс.

DOI: 10.24411/0320-3557-2019-10025

ВВЕДЕНИЕ

Важным свойством эритроцитарного магния является положительный модулирующий эффект на сродство гемоглобина к кислороду [Bunn et al., 1971; Flatman, 2003; Wells, 2009] проявляющийся, в частности, в межвидовых различиях концентрации магния в эритроцитах у рыб, отличающихся интенсивностью газообмена и сродством гемоглобина к кислороду, а также в сезонной динамике концентрации магния в красных кровяных клетках и сродства гемоглобина к кислороду. Активные пловцы, потребляющие много кислорода имели более низкий уровень эритроцитарного магния и более низкое сродство гемоглобина к кислороду, чем рыбы, более устойчивые к дефициту кислорода [Солдатов, 1997 (Soldatov, 1997); Zaprudnova, Kamshilov, 2008; Vornanen et al., 2009; Wells, 2009]. В период нереста (т.е. при напряжении) у рыб регистрировали самый высокий в году уровень магния в эритроцитах и самое высокое сродство гемоглобина к кислороду. Минимальное содержание магния в красных кровяных клетках и минимальное сродство гемоглобина к кислороду отмечено

летом, т.е. при максимальных значениях двигательной активности рыб и температуры воды [Zaprudnova et al., 2016].

Интенсивность газообмена и сродство гемоглобина к кислороду изменяются также при стрессе [Wendelaar Bonga, 1997; Nikinmaa, 2003; Запруднова, Камшилов, 2010 (Zaprudnova, Kamshilov 2010)]. Несмотря на активное изучение физиолого-биохимических процессов у рыб при стрессе [Faught et al., 2016; Rodnick, Planas, 2016; Takei, Hwang, 2016] к настоящему времени отсутствуют сведения об участии эритроцитарного магния, связанного с дыханием, в стрессорных реакциях рыб. Нет информации по этому вопросу и у других (в том числе высших) позвоночных животных, несмотря на интенсивное изучение влияния магния на организм человека (см. специальный журнал *Magnesium Research*, издающийся с 1988 г и освещаемые в нем регулярно проводимые международные конференции, а также многочисленные публикации в других журналах физиолого-биохимической и медицинской направленности). При этом преимущественно

исследуется позитивный эффект магния на нервную и сердечно-сосудистую системы человека [Nechifor, 2008; Rosanoff, Wolf, 2016; Boyle et al., 2017]. Нередко уровень эритроцитарного магния используется для определения дефицита этого иона в организме, однако причину изменения концентрации магния в красных кровяных клетках обычно находят в какой-либо болезни [Cox, et al., 1991; Widmer et al., 1995; Widmer et al., 1998; Копицына и др., 2015 (Kopitsyna et al., 2015)].

Проблема стресса тесно связана с такими фундаментальными свойствами живых организмов, как способность менять ответную реакцию в зависимости от количества (силы и продолжительности) воздействия и исходного состояния организма. Эта зависимость нашла отражение в теориях благоприятного стресса (эустресса) и повреждающего (дистресса) [Dhabhar, 2008; Schreck 2010; Schreck, Tort, 2016] или стресса физиологического и патологического [Аршавский, 1982 (Arshavskii, 1982)]. Патологический стресс (или дистресс) возникает в ответ на действие сильных и/или продолжительных стрессоров, сопровождается усилением катаболических процессов и ведет к снижению устойчивости организма. Патологический стресс и представляет собой стресс в наиболее распространенном понимании этого

явления. Физиологический стресс возникает на непродолжительные стрессоры слабой и средней силы. При физиологическом стрессе происходит увеличение интенсивности анаболических процессов и повышение неспецифической резистентности организма. Ранее [Запруднова, 2017 (Zaprudnova, 2017)] показано, что под действием несильных непродолжительных стрессоров (физиологический стресс) у рыб наблюдается изменение концентрации катионов натрия, калия, кальция и магния во внутренней среде в сторону повышения ионных концентрационных градиентов на мембране клеток и тканей, в частности, гипернатриемия в среднем составляла 10%. При действии сильных и/или продолжительных стрессоров (патологический стресс) изменения концентрации катионов во внутренней среде направлены в сторону снижения ионных концентрационных градиентов на мембране клеток и тканей. При остром обратимом и остром летальном стрессе гипонатриемия составляла, соответственно до 30% и 50%, при подостром и хроническом летальных стрессах, соответственно, до 20% и 10%.

Целью данной работы было изучение динамики концентрации магния в эритроцитах, у некоторых пресноводных рыб при стрессе разной интенсивности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовали, главным образом, половозрелого и близкого к половозрелости леща (*Abramis brama* L.) Рыбинского водохранилища. Часть опытов продублировали на половозрелых и близких к половозрелости особях линя (*Tinca tinca* L.) и серебряного карася (*Carassius auratus gibelio* Bloch). Длина тела исследуемых лещей, линей и карасей варьировала в пределах, соответственно 350–386, 334–362 и 155–280 мм. Кровь после каудотомии собирали в пробирки, смоченные гепарином и центрифугировали при 1800 g 30 мин. Всю плазму вместе с верхним слоем лейкоцитов и эритроцитов удаляли. Эритроциты разводили в 500 раз дистиллированной водой и выдерживали в холодильнике при 4°C не менее 2 суток до полного гемолиза. Концентрацию ионов магния анализировали в абсорбционном режиме на атомно-абсорбционном спектрометре ААС-1 фирмы Carl Zeiss (Jena, Германия) в воздушно-ацетиленовом пламени.

За норму принимали состояние рыб, адаптированных не менее 2-х недель к лабораторным условиям в глубоких затененных бассейнах (соотношение массы тела и воды 1:200 и более). Контролем состоя-

ния рыб служил уровень натриемии [Запруднова, 2017 (Zaprudnova, 2017)]. В качестве несильных непродолжительных стрессоров (1–7) использовали: внутривентральное введение адреналина 0.3–1.5 мг/кг (стрессор 1), введение физраствора (2), введение норадреналина 0.2–1.3 мг/кг (3), укол шприцем в брюшную полость (4), извлечение рыбы из воды на 1–2 мин (5), плавное изменение температуры воды на 4–5°C (6), помещение рыб на 20 мин в ограниченный объем воды: соотношение массы тела и воды 1:15 (стрессор 7). (табл. 1). В качестве непродолжительных (2–20 мин) сильных стрессоров (8–11) применяли резкое повышение температуры воды на 17–23°C (стрессор 8), введение высоких доз адреналина: 5–6 мг/кг (9), в качестве непродолжительного сильного комплексного стрессора рассматривали также 15–20 мин. отлов из природного водоема летом при температуре воды 18–23° (стрессор 10а) и осенью – зимой при температуре воды 2–9° (10б). В работе также анализировали литературные данные [Martemyanov, 1999] на плотве (*Rutilus rutilus* L.), полученные в зимний период года. К более продолжительным сильным ком-

плексным стрессорам отнесены отлов из естественной среды с последующей за ним 1–1.5 ч транспортировкой рыб в лабораторию в ограниченном объеме воды летом (температура воды 19–24°C) в условиях аутогенной гипоксии (снижение содержания кислорода в воде до 3 мг/л) и повышения температуры воды на 5–7°C, когда наблюдается практически полное истощение гормонов в хромоаффинной ткани (стрессор 11а) и осенью при более низких температурах (4–9–16°C) – стрессор 11б. Особи, погибающие в условиях действия стрессора 11б выделены в отдельную группу 11в. Стрессор 12 – 1.5 ч имитация транспортировки летом на адаптированных к лабораторным условиям рыбах (табл. 2). Стрессор 13 – подострый стрессе: 9–15 суточное содержание в лабораторных условиях при повышенном фоне световых и шумовых раздражителей, с высокой плотностью посадки (1:30), с периодическими механическими раздражителями и элементами аутогенной гипоксии. Стрессор 14 – хронический стресс: 1–1.5 мес содержа-

ние в лабораторных условиях при повышенном фоне световых и шумовых раздражителей, с возможной периодической невысокой гипоксией. Кроме того, рыб в условиях хронического стресса иногда подвергали действию несильных, непродолжительных стрессоров: 1 (адреналин в низких дозах), 2 (физраствор), 4 (укол), 7 (ограниченный объем воды) (табл. 3). В ходе опытов рыб не кормили.

Результаты исследований концентрации магния в эритроцитах у рыб сопоставляли с интенсивностью газообмена и величиной сродства гемоглобина к кислороду, полученных ранее [Запруднова, Камшилов, 2010 (Zaprudnova, Kamshilov, 2010)] на тех же видах рыб и в таких же или близких к таковым стрессовых условиях.

В работе представлены средние значения концентрации ионов магния и ошибка средней. Проверку на нормальность распределения в выборках проводили с использованием критерия Шапиро–Уилка. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При действии несильных непродолжительных стрессоров (в настоящих исследованиях стрессоры 1–7), т.е. при физиологическом стрессе, концентрация натрия в плазме крови увеличивалась на 9.2%, восстанавливаясь через 1–2 суток. Уровень магния в эритроцитах в указанных условиях повышался, достигая максимальных значений при температуре воды 17–18°C через 2 ч после воздействия (табл. 1). Далее концентрация магния в эритроцитах постепенно понижалась, возвращаясь к дострессовым значениям через 1–2-е суток. Величина и продолжительность отклонения эритроцитарного катиона увеличивалась от слабых стрессоров к средним. Инъекция гормонов, введение физраствора и укол (стрессоры 1–4), вероятно, следует отнести к стрессорам средней силы: восстановление уровня эритроцитарного магния происходило лишь через 2 суток, а концентрация магния в красных кровяных клетках увеличивалась в 2.3–2.6 раз. При действии стрессоров 5–7, которые, несомненно, слабее первых четырех, концентрация магния в эритроцитах повышалась в 1.8–2.2 раз, а возвращение к нормальным значениям наблюдали уже через сутки. Летом рыбы Рыбинского водохранилища, поднимаясь со дна водоема к прогреваемой солнцем поверхности, ежедневно испытывают такие же небольшие нагрузки, как при действии стрессора 6. С понижением температуры воды реакция на стрессор замедлялась:

зимой при температуре акклимации 0.2°C повышение концентрации магния красных кровяных клетках в 1.8–2.1 раза наблюдали через сутки после введения адреналина (стрессор 1) и укола в тело (стрессор 3). И, напротив, летом при температуре воды 24°C максимальные отклонения уровня магния в эритроцитах происходили уже через 1 ч. после введения адреналина (стрессор 1) и физраствора (стрессор 2): в среднем в 2.4 раза. Сродство гемоглобина к кислороду у леща через 1.5–2 ч после действия непродолжительных несильных стрессоров (низкие дозы адреналина, укол, небольшое повышение температуры воды, кратковременное содержание в небольшом объеме воды) увеличивалось в 1.3–1.7 раза. В этих условиях у леща, линя и карася потребление кислорода снижалось в 1.3–1.6 раз [Запруднова, Камшилов, 2010 (Zaprudnova, Kamshilov, 2010)]

При сильном остром обратимом стрессе (стрессоры 8–12), т.е. при патологическом стрессе, концентрация натрия в плазме крови уменьшалась на 28.3%. Уровень магния в эритроцитах при этом снижался в 1.6–3.0 раза (табл. 2). Через 3–5 суток (раньше не исследовали) регистрировали нормальный уровень этого катиона в эритроцитах: 9.6–11.1 ммоль/л и восстановление к дострессовым значениям концентрации натрия в плазме крови. При остром летальном стрессе (стрессор 11в) уровень магния в эритроцитах

практически не отличался от рыб, выживших в аналогичных условиях.

Отлов рыб в осенне-зимний период оказывал менее стрессирующее действие (стрессор 10б), чем летом при более высоких температурах (стрессор 10а), и, следовательно, вызывал меньшее снижение уровня магния в эритроцитах. Транспортировка рыб проводилась при достаточно высокой температуре и

осенью, поэтому практически отсутствуют различия с летними рыбами. У рыб, адаптированных к лабораторным условиям, и таким образом закаленных и менее чувствительных к стрессорам, на воздействия одинаковой силы (стрессор 12) отклонения концентрации магния в красных кровяных клетках выражены слабее, однако различия с нормой столь же достоверно высоки: $P < 0.001$.

Таблица 1. Концентрация магния в эритроцитах (ммоль/л) у леща после действия несильных непродолжительных стрессоров (общее количество исследуемых рыб – 115)

Table 1. Concentration of magnesium in erythrocytes (mmol/l) of bream after the impact of insignificant short term stressors (total number of the studied fish – 115)

Стрессоры ^x Stressors ^x	Время после окончания действия стрессоров, ч Time since end of exposure to stressors, hours					
	0.5	2	3.5	5	24	48
1 (адреналин 0.3–1.5 мг/кг adrenalin 0.3–1.5 mg/kg)	14.5±0.19***	26.1±0.17***	22.3±0.31***	18.1±0.12***	16.1±0.04***	10.1±0.26***
2 (физраствор normal saline)	15.6±0.20***	24.3±0.15***	20.4±0.19***	15.6±0.26***	15.4±0.08***	10.2±0.15***
3 (норадреналин 0.2–1.3 мг/кг noradrenalin 0.2–1.3 mg/kg)	16.4±0.18***	25.4±0.22***	— ^{xx}	14.7±0.21***	—	—
4 (укол prick)	14.2±0.15***	23.8±0.30***	—	16.2±0.12***	—	—
5 (извлечение из воды на 1–2 мин extraction from water for 1–2 min)	—	22.5±0.21***	—	—	9.9±0.14***	—
6 (плавное повышение температуры воды на 4–5°C gradual increase in temperature of water by 4–5°C)	—	18.7±0.29***	—	—	10.3±0.16***	—
7 (ограниченный объем воды limited volume of water)	13.9±0.16***	—	—	—	—	—

Примечание: ^x – норму см. в таблице 2, *** – $p < 0.001$, – по сравнению с нормой; ^{xx} – прочерк (тире) – не исследовали.

Note: ^x – norm see in Table 2, *** – $p < 0.001$, compared to the norm; ^{xx} – dash – not investigated.

Сродство гемоглобина к кислороду после действия сильных непродолжительных стрессоров (отлов, транспортировка, резкое и большое повышение температуры воды) уменьшалось в 1.2–1.4 раза, а потребление кислорода увеличивалось в среднем в 1.50 раза. Однако очень высокие дозы адреналина (5–6 мг/кг) повышали сродство гемоглобина к кислороду (о причинах этого явления см. ниже). Кроме того у рыб в предгибельном состоянии наблюдали повышение сродства гемоглобина к кислороду в сравнении со свежееотловленными рыбами: например, у леща – до 2 раз. Соответственно, в этих условиях снижалось и потребление кислорода: в 1.3–1.5 раз. [Запруднова, Камшилов, 2010 (Zaprudnova, Kamshilov, 2010)]

Подострый и хронический стресс также относятся к патологическому стрессу. При подостром стрессе рыбы живут от 5 до 20 суток, при хроническом 1–3 мес. При подостром стрессе (стрессор 13) гипонатриемия составляла 19.5%, а концентрация магния в эритроцитах уменьшалась в 2.1 раза (табл. 3). При хроническом стрессе (стрессор 14) гипонатриемия составляла 9.4%, а концентрация магния в эритроцитах в 1.5 раза ниже нормы. Однако сродство гемоглобина к кислороду близко к нормальным значениям: ниже в 1.1–1.15 раза. Регистрировали также пониженное потребление кислорода [Запруднова, Камшилов, 2010 (Zaprudnova, Kamshilov, 2010)]

В условиях хронического стресса у рыб через 1–1.5 ч после дополнительной несильной непродолжительной нагрузки, (когда должны

наблюдаться заметные отклонения в концентрации эритроцитарного магния) в половине случаев регистрировали достоверно выраженное снижение исследуемого показателя, а в остальном – различия не достоверны с ис-

ходным уровнем магния в красных кровяных клетках при хроническом стрессе (табл. 3). Уровень натрия у рыб после дополнительной несильной непродолжительной нагрузки, снижался на 4.3–11.1%.

Таблица 2. Концентрация магния в эритроцитах (ммоль/л) некоторых пресноводных рыб после действия сильных стрессоров (количество исследуемых лещей – 64, линей – 32, карасей – 20)

Table 2. Concentration of magnesium in erythrocytes (mmol/l) of some freshwater fish after exposure to significant stressors (the number of the studied bream – 54, tench – 32, crucian carp – 20)

Стрессоры Stressors	Лещ Bream	Линь Tench	Карась Crucian carp	Плотва Roach (Marte- myanov, 1999)
норма Norm	10.2±0.21	11.0±0.30	12.4±0.28	9.8–10.7
8 (резкое изменение температуры воды на 17–23°C steep increase in water temperature by 17–23°C)	4.1±0.37*** 3.7±0.51***	3.6±0.42***	5.5±0.40***	— ^x
9 (адреналин 5–6 мг/кг adrenalin 5–6 mg/kg)	3.8±0.26***	3.9±0.29***	—	—
10а (отлов из естественной среды летом removal from the natural environment in summer)	4.4±0.35*** 3.6±0.40***	4.8±0.41***	—	—
10б (отлов из естественной среды осенью и зимой removal from the natural environment in autumn and winter)	6.3±0.38*** 4.9±0.36***	6.2±0.37***	6.3±0.42***	6.6–7***
11а (отлов и транспортировка в лабораторию летом catching and transportation to the laboratory in summer)	3.2±0.45***	—	—	—
11б (отлов и транспортировка в лабораторию осенью catching and transportation to the laboratory in autumn)	4.1±0.44***	4.3±0.33***	4.6±0.28***	—
11в (летальный стресс lethal stress)	3.5±0.46***	—	—	—
12 (имитация транспортировки летом imitation of transportation in summer)	6.9±0.39***	7.1±0.36***	7.5±0.41***	—

Примечание. *** – $p < 0.001$ по сравнению с нормой; ^x – прочерк (тире) – не исследовали.

Note. *** – $p < 0.001$ compared to the norm; ^x – dash – not investigated.

Таблица 3. Концентрация магния в эритроцитах (ммоль/л) некоторых рыб при подостром и хроническом стрессе и после действия дополнительных несильных стрессоров (количество исследуемых лещей – 29, линей – 14, карасей – 20)

Table 3. Concentration of magnesium in erythrocytes (mmol/l) of some fish exposed to subsevere and chronic stress and after impact of additional insignificant stressors (the number of the studied bream – 29, tench – 14, crucian carp – 20)

Стрессоры ^x Stressors ^x	лещ Bream	Линь Tench	карась Crucian carp
13 (подострый стресс subsevere stress)	5.3±0.40***	5.0±0.38***	— ^{xx}
14 (хронический стресс chronic stress)	7.2±0.19***	7.4±0.23***	7.6±0.30***
14 (хронический стресс chronic stress) + 1 (адреналин 0.3–1.5 мг/кг adrenalin 0.3–1.5 mg/kg)	5.6±0.32*** **	—	—
14 (хронический стресс chronic stress) + 2 (физраствор normal saline)	4.8±0.37*** ***	—	—

14 (хронический стресс chronic stress) + 4 (укол prick)	6.9±0.35 ^{***}	—	5.6±0.38 ^{***} ^{**}
14 (хронический стресс chronic stress) + 7 (ограниченный объем воды limited volume of water)	7.0±0.36 ^{***}	7.1±0.33 ^{***}	6.1±0.43 ^{***} [*]
			6.9±0.39 ^{***}

Примечание. ^xнорму см. в Таблице 2, ^{***} – P < 0.001, ^{**} – P < 0.01, ^{*} – P < 0.05 под чертой – по сравнению с исходным уровнем при хроническом стрессе, в остальном – по сравнению с нормой; ^{xx} – прочерк (тире) – не исследовали

Note. ^x – norm see in Table 2; ^{***} – P < 0.001, ^{**} – P < 0.01, ^{*} – P < 0.05 under line – compared to the initial level at chronic stress, rest – compared to the norm, ^{xx} – dash – not investigated

ОБСУЖДЕНИЕ

Настоящие исследования выявили зависимость концентрации магния в красных кровяных клетках рыб от интенсивности стрессорной нагрузки разной природы: уровень эритроцитарного магния увеличивался под действием слабых и средних стрессоров (при физиологическом стрессе) и снижался – под действием сильных нагрузок (при патологическом стрессе). Полученные данные указывают также на большой диапазон колебания концентрации магния в эритроцитах рыб при стрессе: пяти-семикратное изменение уровня этого катиона. При этом как в группе сильных так и в группе несильных стрессоров отклонения по продолжительности и величине концентрации магния становились более выраженными с усилением нагрузки. Вероятно, должна существовать какая-то промежуточная по величине нагрузка между средними и сильными стрессорами, которая не вызывает отклонения концентрации магния в эритроцитах (состояние ареактивности). Может, именно с этим явлением связано отсутствие реакции в эритроцитарном магнии у людей на внутривенную инъекцию адреналина [Ryzen et al., 1990]. Однако отсутствие реакции на стрессор в указанной работе могло быть также связано с некоторой латентностью в изменении уровня магния в красных кровяных клетках под действием несильной нагрузки. Практически мгновенно при стрессе изменялась лишь концентрация эритроцитарного натрия, вместе с уровнем регулирующих ее катехоламинов [Zaprudnova, Kamshilov, 2008].

Результаты нашей работы хорошо согласуются с многочисленными исследованиями А.С. Константинова и его учеников (Здановича, Ручина, Кузнецова, Лобачева и др.) на многих видах рыб, а также на земноводных в 1980–2000 гг. [Константинов, 1993 (Konstantinov, 1993)]. Авторами показано, что при небольших колебаниях практически всех известных абиотических факторов (температура, освещенность, кислород, соленость, pH), т.е. при эустрессе или физиологическом стрессе, происходит усиление роста и развития животных, ко-

торое, в свою очередь, сопровождается снижением потребления кислорода и пищи. Из настоящей работы следует, что при эустрессе или физиологическом стрессе увеличение концентрации магния в эритроцитах как положительного модулятора, способствует повышению сродства гемоглобина к кислороду и, таким образом, ослаблению газообмена и, как следствие, повышению анаболизма и усилению роста и развития рыб. И, напротив, уменьшение концентрации магния в эритроцитах при непродолжительных сильных стрессовых воздействиях (реакция тревоги общего адаптационного синдрома; дистресс или патологический стресс) способствует уменьшению сродства гемоглобина к кислороду и поэтому увеличению газообмена и, как следствие, повышению катаболизма. При более продолжительном действии стрессоров (стадия истощения общего адаптационного синдрома, подострый и хронический стресс) необходимо принимать во внимание влияние на сродство гемоглобина к кислороду и, следовательно, интенсивность газообмена уменьшения уровня АТФ в эритроцитах (отрицательного модулятора сродства гемоглобина к кислороду) в связи с общим истощением организма. Вероятно, именно с этим фактором связаны регистрируемые у рыб перед гибелью (в конце патологического стресса) при низкой концентрации магния в эритроцитах относительно высокое сродство гемоглобина к кислороду и сниженная интенсивность газообмена. Можно предположить, что за счет относительно высокого сродства гемоглобина к кислороду и уменьшения потребления кислорода при хроническом стрессе поддерживается состояние метаболической депрессии. Выше отмечалось, что высокие дозы адреналина с одновременным понижением концентрации магния в эритроцитах значительно повышали сродство гемоглобина к кислороду. Вероятно, это также связано с общим истощением организма и уменьшением уровня АТФ под действием очень высоких доз гормона.

С ухудшением состояния (истощенные, ослабленные, больные), а также на фоне уже существующей нагрузки рыбы не реагировали на несильные непродолжительные стрессоры по типу физиологического стресса, т.е. повышением концентрации магния в эритроцитах и изменением уровня катионов во внутренней среде в сторону увеличения ионных концентрационных градиентов на мембране клеток и тканей (состояние ареактивности). Более того, в этих условиях возможны изменения по типу патологического стресса, т.е. снижение концентрации магния в эритроцитах и изменение уровня катионов во внутренней среде в сторону уменьшения ионных концентрационных градиентов на мембране клеток и тканей. Ранее [Запруднова, 2017 (Zaprudnova, 2017)] при действии небольших доз норадреналина и укола шприцем у рыб, больных ихтиофтириозом, также регистрировали гипонатриемию. Другими словами, характер и величина реакции на стрессор зависела еще и от исходного функционального состояния организма.

На основании проведенных исследований ионы магния в эритроцитах, как положительные модуляторы сродства гемоглобина к кислороду, предлагается рассматривать как один из молекулярных механизмов, регулирующих процессы газообмена, анаболизма и катаболизма рыб при стрессе. Особенно важна роль эритроцитарного магния в усилении анаболизма и, следовательно, роста и развития животных при действии несильных, непродолжительных стрессоров, т.е. при эустрессе или физиологическом стрессе.

Кроме того, важную роль в механизмах избыточного анаболизма и повышения устойчивости организма к воздействию неблагоприятных факторов при эустрессе (или физиологическом стрессе) играет энергия увеличенных ионных концентрационных градиентов на мембране клеток и тканей [Запруднова, 2017 (Zaprudnova, 2017)]. Ионные концентрационные градиенты на клеточной мембране принадлежат к числу показателей энергетического состояния организма. В частности, натриевый потенциал относится к основной «энергетической валюте» на наружной мембране животных клеток [Скулачев и др., 2010 (Skulachev et al., 2010)]. В конечном итоге, ионные концентрационные градиенты могут рассматриваться как выражение и как механизм поддержания устойчивой неравновесности организма. Несильные непродолжительные стрессоры создают в природных условиях тот необходимый фон физиологических раздражителей, которые оказывают стимулирующее воздействие на все

жизненные процессы. Мощные анаболические процессы у рыб во время размножения также происходят за счет использования энергии увеличенных ионных концентрационных градиентов на мембране клеток и тканей, а также минимизации расхода энергии путем уменьшения потребления кислорода. Последнее возможно благодаря высокому сродству гемоглобина к кислороду за счет повышения в эритроцитах положительного модулятора – магния [Zaprudnova, Kamshilov, 2016].

Энергия, высвобождающаяся в результате снижения ионных концентрационных градиентов при действии сильных и/или продолжительных стрессоров используется для сохранения жизни в экстремальных условиях.

Концентрация магния в эритроцитах пресноводных и морских рыб близка. Например, диапазон колебания этого показателя у морских донных рыб составлял 9.8–12.8 ммоль/л [Солдатов, 1997 (Soldatov, 1997)]. Однако обращает на себя внимание факт очень низких значений магния в эритроцитах человека в сравнении с рыбами: в норме 1.4–2.3 ммоль/л. У многих других млекопитающих этот показатель также крайне низок, например, у крупного рогатого скота <1 ммоль/л. [Cox, et al., 1991; Hinds et al., 1994; Flatman, 2003; Копицына и др., 2015 (Kopitsyna et al., 2015)]. Можно предположить, что у людей это отражает состояние напряжения в обычной жизни из-за высоких психоэмоциональных нагрузок, интоксикаций и пр., характерных для большей части населения [Garkavi et al. 1998; (Гаркави и др., 1998)]. Более того, у людей с психически пограничными расстройствами уровень эритроцитарного магния <0.3 ммоль/л [Копицына и др., 2015 (Kopitsyna et al., 2015)]. Условия содержания лабораторных животных перед исследованием в вивариях, как правило, не являются достаточно благоприятными. Также необходимо учитывать влияние стрессовых процедур, предшествующих забору крови у людей и других млекопитающих, которые более чувствительны к стрессу, чем рыбы. На психически нездоровых людей эти процедуры могут оказывать особенно пугающее действие. Можно предположить, что значительно отличающиеся уровни эритроцитарного магния (и даже противоположно направленные их изменения) у людей с одинаковыми психическими заболеваниями в работах различных авторов [Cox, et al., 1991; Hinds et al., 1994; Widmer et al., 1995; Widmer et al., 1998; Копицына и др., 2015 (Kopitsyna et al., 2015)] в большей степени могут быть проявлением неспецифического изменения этого

катиона в различных стрессовых ситуациях у пациентов, чем специфического действия болезни. С этих же позиций могут быть объяснены шестикратные различия [Flatman, 2003] в концентрации магния в красных кровяных клетках у свиньи и крупного рогатого скота. Однако, несомненно, существует специфическая связь магния в красных кровяных клетках с некоторыми болезнями, например, серповидно-клеточной анемией [Flatman, 2003].

Необходимо признать, что до настоящего времени уровень эритроцитарного магния в качестве диагностического показателя у животных (и человека) остается недооцененным. Однако к этому вопросу нельзя подходить упрощенно. В частности, высокая изменчивость концентрации эритроцитарного магния при стрессе у рыб (до 2.5 раз в сторону повышения и до 3-х раз – в сторону снижения) несколько ограничивает возможность ее использования в качестве точного показателя дефицита этого катиона в организме. Важной рекомендацией для получения более надежной информации о состоянии организма служит неоднократный анализ уровня магния в красных кровяных клетках у животных (и человека) в различном функциональном состоянии. Результаты наших исследований на рыбах показали, что высокий уровень этого катиона в эритроцитах (в 1.5–2 и более раз выше нормы) характерен для сильных, здоровых животных в состоянии эустресса или физиологического стресса, а крайне низкие значения этого показателя в 1.5–2 и более раз меньше нормы) являются

индикатором как обратимого, так и постоянно-го неблагополучия (дистресса или патологического стресса). Отсутствие реакции концентрации эритроцитарного магния на несильный непродолжительный стрессор в сторону повышения, а тем более – изменение в сторону понижения уровня этого катиона также указывает на неблагополучие. Диагностика состояния животных по концентрации магния во внутренней среде организма представляет еще большие затруднения. Во-первых, это связано с тем, что при физиологическом стрессе происходит непродолжительное изменение концентрации магния в плазме крови в сторону повышения концентрационных градиентов на мембране клеток, т.е. гипوماгнемия, а при патологическом, напротив, более или менее продолжительная гипермагнемия [Запруднова, 2017 (Zaprudnova, 2017)]. Поэтому наблюдаемая гипوماгнемия у человека после внутривенного введения адреналина ошибочно расценивается авторами [(Ryzen et al., 1990)] как негативное явление. Однако в обобщающей работе [Romani, 2011] даны ссылки на 6 работ 80–90-х гг. прошлого века, в которых получена непродолжительная (до 2-х часов) гипермагнемия у человека после введения катехоламинов. Указанные работы, несомненно, требуют серьезного анализа, особенно их методическая часть. Низкий уровень эритроцитарного магния – более надежная характеристика неблагополучия организма: временно-го или постоянного.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые выявлена зависимость изменения концентрации магния в эритроцитах от интенсивности стрессовой нагрузки разной природы на примере пресноводных рыб: леща, карася, линя. Слабые и средние по силе воздействия (низкие дозы адреналина, норадреналина, небольшие изменения температуры воды, введение физраствора, укол в брюшную полость, кратковременное извлечение рыб из воды, непродолжительное содержание в ограниченном объеме воды) увеличивали концентрацию магния в эритроцитах до 2.5 раз. Одновременно при этом наблюдали повышение сродства гемоглобина к кислороду и уменьшение потребления кислорода. Однако сильные стрессоры типа отлова, транспортировки рыб в лабораторию (представляющие комплексные воздействия гипоксии, ограниченного объема воды, механических воздействий и др.), а также резкое и большое изменение температуры воды и др. снижали концентрацию магния в эритроцитах до 3-х раз. При этом происходило

уменьшение сродства гемоглобина к кислороду и усиление поглощения кислорода. Однако перед гибелью рыб (при истощении) при низком уровне магния в эритроцитах сродство гемоглобина к кислороду повышалось, а интенсивность газообмена уменьшалась. Проведенные исследования позволяют рассматривать изменение концентрации ионов магния в красных кровяных клетках – которые являются положительными модуляторами сродства гемоглобина к кислороду – при стрессе у рыб как один из механизмов уменьшения интенсивности газообмена при слабых и средних непродолжительных стрессовых воздействиях и увеличения – при непродолжительных сильных. Особенно важна роль эритроцитарного магния как молекулярного механизма уменьшения поглощения кислорода и, следовательно, усиления анаболизма и, таким образом, увеличения роста и развития животных при действии несильных, непродолжительных стрессоров, т.е. при эустрессе или физиологи-

ческом стрессе. Кроме того, концентрация магния в эритроцитах может служить индикатором состояния рыб. Высокий уровень этого катиона в эритроцитах (в 1.5–2 и более раз выше нормы) характерен для сильных, здоровых животных в состоянии эустресса или физиологического стресса, а крайне низкие значения этого показателя (в 1.5–2 и более раз

ниже нормы) являются индикатором обратимого или постоянного неблагополучия (дистресса или патологического стресса). Ослабленные, истощенные животные не способны к ответной реакции по типу эустресса или физиологического стресса. В работе обсуждаются возможные причины низкой концентрации магния в эритроцитах людей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аршавский И.А. Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития. М: Наука, 1982. 270 с.
- Гаркави Л.Х., Квакина Е.В., Кузьменко Т.С. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Реакция активации как путь к здоровью через процессы самоорганизации. М.: ИМЕДИС, 1998. 656 с.
- Запруднова Р.А. Непродолжительное действие несильных стрессоров на концентрацию катионов в плазме крови леща // Труды ИБВВ РАН. 2017. Вып 78 (81). С. 77–89. DOI: 10.24411/0320-3557-2017-10015
- Запруднова Р.А., Камшилов И.М. Влияние стрессовых факторов на дыхание и двигательную активность рыб // Поведение рыб, 2010. М.:АКВАРОС. С. 69–73
- Константинов А.С. Влияние колебаний температуры на рост, энергетику и физиологическое состояние молоди рыб. // Известия АН РАН Серия биология. 1993. № 1. С. 55–63
- Копицына У.Е., Гришина Т.Р., Торшин И.Ю., Калачева А.Г., Громова О.А. Сверхнизкий уровень магния как значимый фактор патогенеза пограничных психических расстройств. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2015. № 11. С. 85–96. DOI: 10.17116/jnevro201511511185-96.
- Скулачев В.Р., Богачев А.В., Каспаринский Ф.О. Мембранная биоэнергетика. М.:МГУ, 2010. 368 с.
- Солдатов А.А. Кислородно-диссоциационные свойства крови и состав внутриэритроцитарной среды у морских рыб с различной двигательной активностью // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 1997. Т. 33, № 6, С 607–614.
- Boyle, N. B., Lawton, C., Dye L. The Effects of Magnesium Supplementation on Subjective Anxiety and Stress. A Systematic Review. // *Nutrients*. 2017. Vol. 9, № 5. P. 429. DOI: 10.3390/nu9050429
- Bunn H. F., Rabsil B.J., Chao A. The Interaction between Erythrocyte Organic Phosphates, Magnesium Ion, and Hemoglobin // *Journal of Biological Chemistry*. 1971. Vol. 246, № 17. P. 5273–5279.
- Cox, I. M., Cambell, M. J., Dowson, D. Red blood cell magnesium and chronic fatigue syndrome // *The Lancet*. 1991. Vol. 337, № 8744. P.757–760. doi.org/10.1016/0140-6736(91)91371-Z
- Dhabhar, F. S. Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: implications for immunoprotection versus immunopathology. // *Allergy, Asthma, Clinical Immunology*. 2008. Vol 4, № 2. P. 2–11. doi.org/10.1186/1710-1492-4-1-2
- Faught, E., Aluru, N., Vijayan, M. M. The Molecular Stress Response. // *Biology of Stress in Fish: Fish Physiology*. 2016. Vol. 35, № 4. P. 113–166. doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00004-7
- Flatman, P. W. Magnesium Transport. // *Red Cell Membrane Transport in Health and Disease*. 2003. Vol. 16. P. 407–434. DOI: 10.1007/978-3-662-05181-8_16
- Hinds, G, Bell, N. P., McMaster, D., McCluskey, D. R. Normal red cell magnesium concentrations and magnesium loading tests in patients with chronic fatigue syndrome. // *Annals of Clinical Biochemistry*. 1994. Vol. 31, № 5, P. 459–61. DOI: 10.1177 / 000456329403100506
- Martemyanov, V. I. Concentrations of cations in the plasma, erythrocytes, muscles, and gonads of *Rutilus rutilus* in nature and in those acclimated to laboratory conditions. // *Journal of Ichthyology*. 1999. Vol. 39, № 2. P. 198–201.
- Nechifor, M. Interactions between magnesium and psychotropic drugs. // *Magnesium Research*. 2008. Vol. 21, № 2, P. 97–100. DOI: 10.1684/mrh.2008.0131
- Nikinmaa, M. Gas Transport. // *Red Cell Membrane Transport in Health and Disease*. 2003. P. 489–509. DOI: 10.1007/978-3-662-05181-8_20
- Rodnick K. J., Planas J. V The Stress and Stress Mitigation Effects of Exercise: Cardiovascular, Metabolic, and Skeletal Muscle Adjustments. // *Biology of Stress in Fish: Fish Physiology*. 2016. Vol. 35, № 7. P. 251–294. doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00007-2
- Romani A.M.P. Cellular magnesium Homeostasis. // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2011. Vol. 512. № 1. P. 1–23. DOI: 10.1016/j.abb.2011.05/010
- Rosanoff, A., Wolf, F. I. A guided tour of presentations at the XIV International Magnesium Symposium “Magnesium in Health, Disease” Roma, Villa Malta, June 23–24, 2016. // *Magnesium Research*. 2016. Vol. 29, № 3. P. 55–59. DOI:10.1684/mrh.2016.0405
- Ryzen, E., Servis, K. L., Rude, R. K. Effect of intravenous epinephrine on serum magnesium and free intracellular red blood cell magnesium concentrations measured by nuclear magnetic resonance. // *Journal of the American College of Nutrition*. 1990. Vol. 9, № 2. P. 114–119. doi.org/10.1080/07315724.1990.10720359
- Schreck, C. B. Stress and fish reproduction: The roles of allostasis and hormesis // *General and Comparative Endocrinology*. 2010. Vol. 165, № 3. P. 549–556. doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.07.004

- Schreck, C. B., Tort, L. The Concept of Stress in Fish. //Biology of Stress in Fish: Fish Physiology. 2016. Vol. 35, № 1. P. 1–34 doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00001-1
- Takei, Y., Hwang P.-P. Homeostatic Responses to Osmotic Stress. // Biology of Stress in Fish: Fish Physiology. 2016. Vol. 35, № 6. P. 207–249. doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00006-0
- Vornanen, M., Stecyk J. A.W., Nilsson G.E. The Anoxia-Tolerant Crucian Carp (*Carassius Carassius* L.) // Fish Physiology. 2009. Vol. 27, № 9. P. 397–441. doi.org/10.1016/S1546-5098(08)00009-5
- Wells, R. M. G. Blood-Gas Transport and Hemoglobin Function: Adaptation for Functional and Environmental Hypoxia. // Fish Physiology. 2009. Vol. 27, №6. P. 255–299. doi.org/10.1016/S1546-5098(08)00006-X
- Wendelaar Bonga, SE. The stress response in fish. // Physiological Reviews. 1997. Vol. 77, № 3. P. 591–625. doi.org/10.1152/physrev.1997.77.3.591
- Widmer, J., Féray, J.-C., Bovier, P., Hilleret, H., Raffin, Y., Chollet, D., Gaillard, J.-M., Garay, R. Sodium-Magnesium Exchange in Erythrocyte Membranes from Patients with Affective Disorders. // Neuropsychobiology. 1995. № 32. P. 3–18. doi.org/10.1159/000119206
- Widmer, J., Henrotte, J. G., Raffin, Y., Mouthon, D., Chollet, D., Stepanian, R., Bovier, P. Relationship between blood magnesium and psychomotor retardation in drug-free patients with major depression. // European Psychiatry. 1998. № 13. P. 90–97. doi.org/10.1016/S0924-9338(98)80024-2
- Zaprudnova, R. A., Kamshilov, I. M. Interspecific Differences of Respiratory Functions of Some Freshwater Fish Species. // Journal of Ichthyology. 2008. Vol. 48, № 6. P. 460–468. DOI: 10.1134/S0032945208060064
- Zaprudnova, R. A., Kamshilov, I. M. Seasonal variations of functional properties of hemoglobin and ionic environment in the Freshwater fish: An example of bream, *Abramis brama* (Cyprinidae). // Journal of Ichthyology. 2016. Vol. 56, № 2. P. 304–311. DOI: 10.1134/S0032945216020156

REFERENCES

- Arshavskii, I. A. 1982. Fiziologicheskie mekhanizmy i zakonomernosti individual'nogo razvitiya. [Physiological mechanisms and patterns of individual development]. Nauka, Moskva (In Russian).
- Boyle, N. B., Lawton, C., Dye L. 2017. The Effects of Magnesium Supplementation on Subjective Anxiety and Stress. A Systematic Review. // Nutrients. Vol. 9, № 5. P. 429. DOI: 10.3390/nu9050429
- Bunn H. F., Rabsil B.J., Chao A. 1971. The Interaction between Erythrocyte Organic Phosphates, Magnesium Ion, and Hemoglobin // Journal of Biological Chemistry. Vol. 246, № 17. P. 5273–5279.
- Cox, I. M., Cambell, M. J., Dowson, D. 1991. Red blood cell magnesium and chronic fatigue syndrome // The Lancet.. Vol. 337, № 8744. P. 757–760. doi.org/10.1016/0140-6736(91)91371-Z
- Dhabhar, F. S. 2008. Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: implications for immunoprotection versus immunopathology. // Allergy, Asthma, Clinical Immunology. Vol 4, № 2. P. 2–11. doi.org/10.1186/1710-1492-4-1-2
- Garkavi L.Kh., Kvakina E.V., Kuz'menko T.S. 1998 Antistressornye reaktsii i aktivatsionnaya terapiya. Reaktsiya aktivatsii kak put' k zdorov'yu cherez protsessy samoorganizatsii. [Garkavi L.Kh., Kvakina E.V., Kuzmenko, T.S. Anti-stress reactions and activation therapy. The activation reaction as a way to health through self-organization processes]. M: IMEDIS. 656 s. (In Russian)
- Faught, E., Aluru, N., M. M. 2016. The Molecular Stress Response. // Biology of Stress in Fish: Fish Physiology. Vol. 35, № 4. P. 113–166. doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00004-7
- Flatman, P. W. 2003. Magnesium Transport. // Red Cell Membrane Transport in Health and Disease. Vol. 16. P. 407–434. DOI: 10.1007/978-3-662-05181-8_16
- Hinds, G, Bell, N. P., McMaster, D., McCluskey, D. R. 1994. Normal red cell magnesium concentrations and magnesium loading tests in patients with chronic fatigue syndrome. // Annals of Clinical Biochemistry. Vol. 31, № 5, 459–61. DOI: 10.1177 / 000456329403100506
- Konstantinov, A. S. 1993. Vliyaniye kolebaniy temperatury na rost, ehnergetiku i fiziologicheskoe sostoyaniye molodi ryb [Influence of temperature fluctuations on the growth, energy and physiological state of juvenile fish]. Izvestiya AN RAN. Seriya biologiya. Vol. 1. P. 55–63 (In Russian).
- Kopitsyna, U. E, Grishina, T. R , Torshin, I. Y, Kalacheva, A. G., , Gromova, O. A. 2015. Sverkhznizkiy uroven' magniya v eritrotsitakh kak znachimyy faktor patogeneza pograniichnykh psikhicheskikh rassstroystv [Very low magnesium levels in red blood cells as a significant factor in the etiopathogenesis of borderline disorders.] Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S. S. Korsakova Vol. 115, № 11. P. 85–96. (In Russian). DOI: 10.17116/jnevro201511511185-96.
- Martemyanov, V. I. 1999. Concentrations of cations in the plasma, erythrocytes, muscles, and gonads of *Rutilus rutilus* in nature and in those acclimated to laboratory conditions. // Journal of Ichthyology. Vol. 39, № 2. P. 198–201.
- Nechifor, M. 2008. Interactions between magnesium and psychotropic drugs. // Magnesium Research. Vol. 21, № 2, P. 97–100. DOI: 10.1684/mrh.2008.0131
- Nikinmaa, M. 2003. Gas Transport. // Red Cell Membrane Transport in Health and Disease. P. 489–509. DOI: 10.1007/978-3-662-05181-8_20
- Rodnick K. J., Planas J. V 2016. The Stress and Stress Mitigation Effects of Exercise: Cardiovascular, Metabolic, and Skeletal Muscle Adjustments. // Biology of Stress in Fish: Fish Physiology. Vol. 35, № 7. P. 251–294. doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00007-2

- Romani A.M.P. 2011. Cellular magnesium Homeostasis. // Archives of Biochemistry and Biophysics. Vol. 512. № 1. P. 1–23. DOI: 10.1016/j.abb.2011.05.010
- Rosanoff, A., Wolf, F. I. 2016. A guided tour of presentations at the XIV International Magnesium Symposium “Magnesium in Health, Disease” Roma, Villa Malta, June 23–24, 2016. // Magnesium Research. Vol. 29, № 3. P. 55–59. DOI: 10.1684/mrh.2016.0405
- Ryzen, E., Servis, K. L., Rude, R. K. 1990. Effect of intravenous epinephrine on serum magnesium and free intracellular red blood cell magnesium concentrations measured by nuclear magnetic resonance. // Journal of the American College of Nutrition. Vol. 9, № 2. P. 114–119. doi.org/10.1080/07315724.1990.10720359
- Schreck, C. B. 2010. Stress and fish reproduction: The roles of allostasis and hormesis // General and Comparative Endocrinology. Vol. 165, № 3. P. 549–556. doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.07.004
- Schreck, C. B., Tort, L. 2016. The Concept of Stress in Fish. // Biology of Stress in Fish: Fish Physiology. Vol. 35, № 1. P. 1–34 doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00001-1
- Skulachev, V.P., Bogachev, A.V., Kasparinskiy, F.O. 2010. Membrannaya bioenergetika [Membrane bioenergetics]. Moskva: MGU. 368 s. (In Russian).
- Soldatov, A.A. 1997. Kislorodno-dissotsionnye svoystva krovi i sostav vnutritrotsitarnoy sredy u morskikh ryb s razlichnoy dvigatel'noy aktivnost'yu. [Oxygen-dissociation properties of blood and composition of intra-erythrocytic medium in marine fishes with different motor activity] // Zhurnal evolyutsionnoy biokhimii i fiziologii/ Vol. 33, № 6. P. 607–614. (In Russian)
- Takei, Y., Hwang P.-P. 2016. Homeostatic Responses to Osmotic Stress. // Biology of Stress in Fish: Fish Physiology. Vol. 35, № 6. P. 207–249. doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00006-0
- Vornanen, M., Stecyk J. A.W., Nilsson G.E. 2009. The Anoxia-Tolerant Crucian Carp (*Carassius Carassius* L.) // Fish Physiology. Vol. 27, № 9. P. 397–441. doi.org/10.1016/S1546-5098(08)00009-5
- Wells, R. M. G. 2009. Blood-Gas Transport and Hemoglobin Function: Adaptation for Functional and Environmental Hypoxia. // Fish Physiology. Vol. 27, № 6. P. 255–299. doi.org/10.1016/S1546-5098(08)00006-X
- Wendelaar Bonga, SE. 1997. The stress response in fish. // Physiological Reviews. Vol. 77, № 3. P. 591–625. doi.org/10.1152/physrev.1997.77.3.591
- Widmer, J., Féray, J.-C., Bovier, P., Hilleret, H., Raffin, Y., Chollet, D., Gaillard, J.-M., Garay, R. 1995. Sodium-Magnesium Exchange in Erythrocyte Membranes from Patients with Affective Disorders. // Neuropsychobiology, № 32. P. 3–18. doi.org/10.1159/000119206
- Widmer, J., Henrotte, J. G., Raffin, Y., Mouthon, D., Chollet, D., Stepanian, R., Bovier, P. 1998. Relationship between blood magnesium and psychomotor retardation in drug-free patients with major depression. // European Psychiatry. № 13. P. 90–97. doi.org/10.1016/S0924-9338(98)80024-2
- Zaprudnova R. A. 2017. Neprodolzhitel'noe deystvie nesil'nykh stressorov na kontsentratsiyu kationov v plazme krovi leshcha [Short-term effect of weak stressors on the concentration of cations in plasma of blood of the bream]. // Trudy IBVV RAN. Vol. 78 (81). P. 77–89 (In Russian).
- Zaprudnova, R. A., Kamshilov, I. M. 2010. Vliyanie stressovykh faktorov na dykhanie i dvigatel'nyuyu aktivnost' ryb // [The influence of stress factors on the respiration and motor activity of fish] // Povedenie ryb. M: AKVAROS. P. 69–73 (In Russian).
- Zaprudnova, R. A., Kamshilov, I. M. 2008. Interspecific Differences of Respiratory Functions of Some Freshwater Fish Species. // Journal of Ichthyology. Vol. 48, № 6. P. 460–468. DOI: 10.1134/S0032945208060064
- Zaprudnova, R. A., Kamshilov, I. M. 2016. Seasonal variations of functional properties of hemoglobin and ionic environment in the Freshwater fish: An example of bream, *Abramis brama* (Cyprinidae). // Journal of Ichthyology. Vol. 56, № 2. P. 304–311. DOI: 10.1134/S0032945216020156

PARTICIPATION OF ERYTHROCYTE MAGNESIUM IN STRESS RESPONSES OF FISH

R. A. Zaprudnova

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences,
152742 Borok, Russia, e-mail: raz@ibiw.ru*

On the bream (*Abramis brama* L.), the crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch) and the tench, (*Tinca tinca* L.) of the Rybinsk reservoir studied the change in the concentration of magnesium in erythrocytes under the action of stressors of different quality and quantity. The concentration of magnesium ions was analyzed on an atomic absorption spectrometer AAS-1 from Carl Zeiss (Germany) in the absorption regime in an air-acetylene flame. For the first time in animals (on the example of freshwater fish), the relationship of change in the concentration of magnesium in erythrocytes to the intensity of stress loads of different type was determined. Insignificant and average loads (eustress or physiological stress) increased the concentration of magnesium in erythrocytes, and the same factors but in higher doses, and complex effects of strong stressors (distress or pathological stress) decreased the content of magnesium in erythrocytes. During eustress, we observed increase in affinity of hemoglobin for oxygen and decrease of consumption of oxygen, and during distress – shift of dissociation curve to the right and intensification of gas exchange. Based on conducted study, ions of magnesium in erythrocytes (as positive modulators of affinity of hemoglobin for oxygen) are recommended to considered one of the molecular mechanisms regulating the processes of gas exchange and metabolism of fish under

stress. An especially significant role of these ions is intensifying anabolism and, therefore, growth and development of animals exposed to the influence of not strong (weak and medium strength), short-term stressors, i.e. to eustress or physiological stress. However, before death, the fish (at the end of pathological stress) at low concentration of magnesium in erythrocytes had increased affinity of hemoglobin for oxygen, and reduced intensity of gas exchange. Perhaps, in this situation, the essential role in the shift of dissociation curve to the left is played by decrease in the level of ATP – negative modulator of affinity of hemoglobin for oxygen – due to the general exhaustion of organism. Concentration of magnesium in erythrocytes can be an indicator of condition of fish, in particular, an extremely low level of magnesium in red blood cells always indicates temporary or constant ill-being. Weakened, exhausted, diseased animals are not able to react in response to type of eustress or physiological stress.

Keywords: erythrocyte magnesium, bream, tench, crucian carp, affinity of hemoglobin to oxygen, gas exchange intensity, eustress, distress

ОТКРЫТИЕ НЕФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ХИЩНЫХ РОДСТВЕННИКОВ КРАСНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ ПРОЛИВАЕТ СВЕТ НА ПРОИСХОЖДЕНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ЭУКАРИОТ

Д. В. Тихоненков

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: tikho-denis@yandex.ru

В статье приведен обзор работы, посвященной открытию нового таксономического типа хищных жгутиковых протистов *Rhodolphidia*, которые являются сестринской группой по отношению к красным водорослям, опубликованной в журнале *Nature* в июле 2019 г. Неожиданно, но характеристики *Rhodolphidia* почти противоположны признакам красных водорослей. Они являются нефотосинтетическими жгутиконосцами-хищниками (поедают других протистов) с крупными, богатыми генами геномами, а также реликтовой первичной пластидой, которая участвует в биосинтезе гема. Обнаружение этих организмов значительно изменяет сложившиеся в науке представления о происхождении красных водорослей и эволюции архепластид (растений, зеленых, красных и глаукофитовых водорослей) в целом, поскольку предполагает, что миксотрофное питание (комбинация хищничества и фотоавтотрофии) присутствовало достаточно долго в ранней эволюции *Archaeplastida*, и фаготрофия не была утрачена при возникновении данной супергруппы.

Ключевые слова: *Rhodolphidia*, эволюция эукариот, фотосинтез, красные водоросли, жгутиконосцы.

DOI: 10.24411/0320-3557-2019-10026

Встраивание фотосинтетической цианобактерии в клетку фаготрофного простейшего привело к возникновению и дальнейшей радиации *Archaeplastida* – супергруппы эукариот, объединенной общностью происхождения пластид путем первичного эндосимбиоза. Архепластиды включают *Viridiplantae* (зеленые водоросли и наземные растения), глаукофитовые водоросли (*Glaucophyta*) и красные водоросли (*Rhodophyta*) [Adl et al., 2019]. Архепластиды играют громадную роль в наземных и водных экосистемах. Более того, многократное и независимое поглощение клеток этих организмов, несущих первичные пластиды, клетками других эукариот привело к возникновению организмов со вторичными и третичными пластидами [Keeling, 2013], что послужило диверсификации эукариот и росту видового разнообразия на планете. Особенно выдающимися являются примеры с эндосимбиотическим поглощением красных водорослей (рис. 1), в результате чего произошли различные организмы – от смертоносных малярийных паразитов [McFadden et al., 1996] до ключевых элементов геохимических циклов на Земле, например, диатомовых водорослей, пелагофитовых, примнезиофитовых, динофитовых [Worden et al., 2015]. Все это делает понимание происхождения и эволюции красных водорослей критичным для более широких интерпретаций эволюции эукариот в целом.

Красные водоросли являются древним таксоном эукариот [Bengtson et al., 2017], объединяющим огромное разнообразие экологически и ультраструктурно различных

видов, включающих одноклеточных термоацидофилов [Matsuzaki et al., 2004], многоклеточные морские водоросли и паразитов [Blouin, Lane, 2012]. Типично автотрофные красные водоросли объединены некоторыми общими производными признаками: они имеют маленькие геномы с небольшим числом интронов, редуцированный метаболизм, и характеризуются полным отсутствием цитоскелетных структур (жгутиков и центриолей), связанных с движением. Данные признаки предполагают резкую потерю генов при происхождении родофитовых [Qiu et al., 2015], однако, данные процессы чрезвычайно сложно реконструировать ввиду огромного отличия красных водорослей от других линий *Archaeplastida*, эволюционные взаимосвязи между которыми также не ясны.

Нами был открыт новый таксономический тип эукариот *Rhodolphidia* Tikhonenkov, Gawryluk, Mylnikov, and Keeling, 2019, пока включающий один род *Rhodolphis* и два вида [Gawryluk et al., 2019]. С использованием филогеномики было показано, что *Rhodolphidia* представляют собой отдельную и самую близкую к красным водорослям эволюционную линию среди известных таксонов. Неожиданно, но характеристики *Rhodolphis* почти противоположны признакам красных водорослей. Они являются нефотосинтетическими жгутиконосцами-хищниками (поедают других протистов) с крупными, богатыми генами геномами, а также реликтовой первичной пластидой, которая участвует в биосинтезе гема.

Первый представитель данной группы *Rhodelfis marinus* был найден в 2015 г. на морской литорали среди кораллового песка на небольшом острове Байкан [Bay Canh] неподалеку от о. Кондао, Южный Вьетнам. Неожиданно, в 2016 г. в пробе с детритом из пресно-

водного озера Трубин (Черниговская обл., Украина) был обнаружен второй вид данного рода (*Rhodelfis limneticus*). Оба вида, морской и пресноводный, имели похожую морфологию, но при этом имели только 91% сходства по гену 18S rRNA.

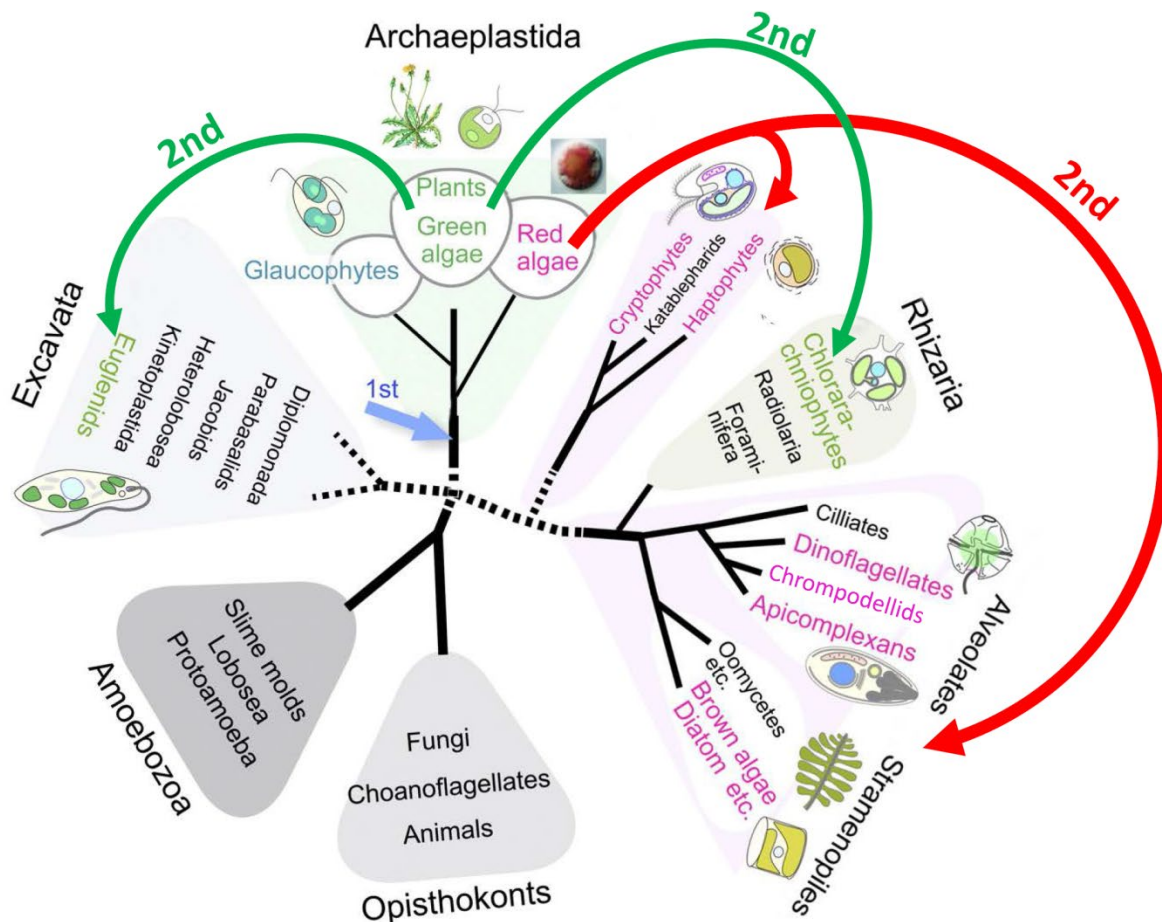


Рис. 1. Схематичное древо эукариот и эндосимбиотическое приобретение первичных (1st) и вторичных (2nd) пластид, произошедших от клеток зеленых водорослей (показано зелеными стрелками) и красных водорослей (показано красными стрелками). Из: Miyagishima, 2011 с изменениями.

Fig. 1. Schematic tree of eukaryotes and endosymbiotic origins of primary (1st) and secondary (2nd) plastids from green algae (green arrows) and red algae (red arrows). From: Miyagishima, 2011 with modifications.

Клетки *Rhodelfis* мелкие, 10–13 мкм, ригидные, овальные, уплощенные, со слегка скошенным передним концом и двумя субапикальными гетеродинамичными жгутиками (рис. 2). Передний жгутик голый, быстро сокращается и направлен вперед. Задний жгутик проходит назад вдоль тела клетки и имеет один ряд очень тонких мастигонем. Пресноводный вид имеет крупную апикальную сократительную вакуоль и круглые цисты. *Rhodelfis* активно питаются клетками других простейших и не выживают только на бактериях. Фагоцитоз происходит в заднем конце клетки, где затем формируется крупная пищеварительная вакуоль.

Таким образом, в морфологии, питании и образе жизни жгутиконосцев *Rhodelfis* и

красных водорослей нет ничего общего. Однако, филогеномный анализ с полной поддержкой однозначно указывает, что они являются ближайшими сестринскими эволюционными линиями (рис. 3).

Анализ ультратонкого строения клеток, проведенный при участии и под руководством д.б.н. А.П. Мыльникова (ИБВВ РАН) показал, что характерными морфологическими ультратруктурными признаками *Rhodelfis* являются зонтиковидные гликоцили на поверхности клетки и жгутика, перпендикулярно-ориентированные кинетосомы с отходящими исчерченными структурами и по меньшей мере двумя фибриллами, две широких и одна узкая микротрубочковые ленты, переходная зона жгутика с поперечной пластинкой на уровне

клеточной поверхности и проксимальной диафрагмой, сквозь которую проходит центральная пара жгутиковых микротрубочек, окруженных цилиндром. Двухслойный гладкий эндоплазматический ретикулум в виде необычного мешка, заключающего в себе ядро и митохондрии. Данный мешок открывается

вблизи базальных тел жгутиков. Митохондрии удлинённые с трубчатыми кристами, прилегают к стенке эндоплазматического ретикулума. Пищеварительные вакуоли содержат клетки эукариотической жертвы целиком, а также бактерии.

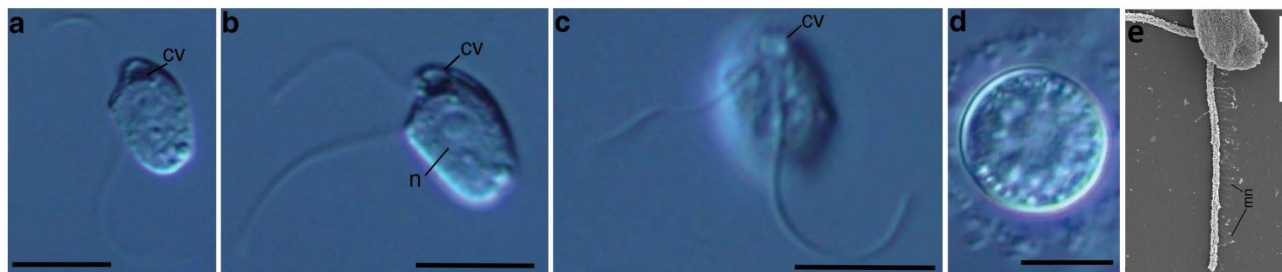


Рис. 2. Морфология клеток *Rhodelphis*. а-с – жгутиковые клетки, световая микроскопия, DIC; d – циста, световая микроскопия, DIC; e – мастигонемы заднего жгутика, сканирующая электронная микроскопия. cv – сократительная вакуоль, n – ядро, mn – мастигонемы. Масштабные линейки: а-с – 10 мкм, d, e – 5 мкм. Из: Gawryluk et al., 2019 с изменениями.

Fig. 2. Morphology of *Rhodelphis*. . a-c – flagellated cells, light microscopy, DIC; d – cyst, light microscopy, DIC; e – mastigonemes of posterior flagellum, scanning electron microscopy. cv – contractile vacuole, n – nucleus, mn – mastigonemes. Scale bars: a-c – 10 μ m, d, e – 5 μ m. From: Gawryluk et al., 2019 with modifications.

Округлые осмиофильные тельца заключенные в везикулы разбросаны в цитоплазме ближе к поверхности клетки. Эти структуры могут представлять собой стрекательные органеллы, типичные для других хищных протистов, и напоминают слизистые тела некоторых церкозов и пединеллат. Пластиды не визуализированы микроскопически, но *Rhodelphis* имеет скрытые первичные нефотосинтетические пластиды, поскольку в транскриптомах этих организмов были выявлены гены белков, выполняющих пластидные функции.

Потеря фотосинтеза в эволюции относительно обычное явление, но полная потеря самих пластид чрезвычайно редка [Gornik et al., 2015; Xu et al., 2004]. Вероятное объяснение заключается в том, что пластиды несут многие другие метаболические функции, важные для клетки хозяина, включая биосинтез гема, жирных кислот, изопреноидов, кластеров FeS [Janoušková et al., 2015; Ralph et al., 2004]. Гены этих и большинства пластидных белков закодированы в ядре у археplastид и таргетируются через N-терминальные транзитные пептиды, распознаваемые TIC/TOC импортирующими комплексами. Гомологи некоторых белков импорта пластид (Tic20, Tic22, Tic32 и Toc75) были обнаружены в транскриптомах и геномах *Rhodelphis*, а также многие другие белки с предполагаемыми пластидными функ-

циями, имеющими N-терминальные транзитные пептиды, что предполагает наличие пластид-таргетинговой системы, как и ожидается для археplastид.

Rhodelphis практически не кодирует белки, вовлеченные в фотосинтетический транспорт электронов или синтез АТФ, что согласуется с отсутствием пигментации. Исключения составляют ферредоксин и ферредоксин-НАДФ⁺-редуктаза (ФНР), которые присутствуют (рис. 3А). В фотосинтетических пластидах, ферредоксин и ФНР формируют окислительно-восстановительную пару, которая принимает электроны от фотосистемы I и восстанавливает НАДФ⁺ до НАДФН, обеспечивая фиксацию углерода. В нефотосинтетических пластидах, ферредоксин и ФНР катализируют обратную реакцию, с использованием ФНР для восстановления ферредоксина через НАДФН, а ферредоксин используется как источник электронов для других реакций. Предполагается, что пара ферредоксин/ФНР у *Rhodelphis* также функционирует в обратном направлении, и главным образом участвует в сборке железосодержащих FeS кластеров и биосинтезе гема. В поддержку этого предположения, *Rhodelphis* также кодирует гены механизма биосинтеза FeS кластеров пластидного SUF (sulfur formation) – типа [Gawryluk et al., 2019].

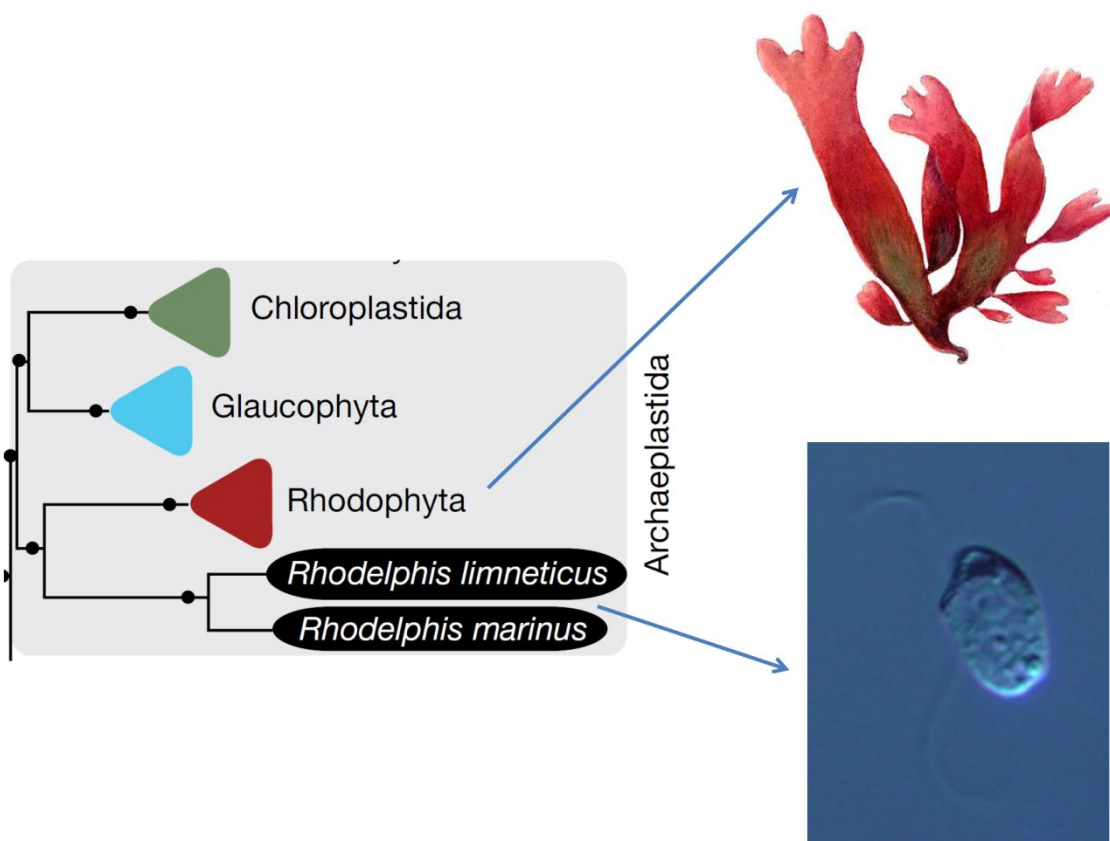


Рис. 3. Фрагмент филогеномного байесова древа (253 белковых гена, CAT + GTR), показывающий сестринскую позицию *Rhodelphis* по отношению к красным водорослям. Из: Gawryluk et al., 2019 с изменениями.

Fig. 3. Fragment of phylogenomic PhyloBayes tree (253 protein-coding genes, CAT + GTR) showing sister position of *Rhodelphis* to red algae. From: Gawryluk et al., 2019 with modifications.

Как описано выше, *Rhodelphis* обладают несколькими уникальными морфологическими особенностями, а также имеют признаки, общие с представителями различных супергрупп эукариот. Клетки *Rhodelphis* напоминают общий план строения криптофитовых, особенно уплощенные клетки гониомонадид со скошенным передним концом и одним рядом мастигонем на заднем жгутике. Однако криптомонады также имеют два ряда мастигонем на локомоторном жгутике, сложный перипласт, эжектосомы, нуклеоморф, почти параллельные базальные тела и митохондрии с пластинчатыми кристами [Kugrens et al., 1987; Kim, Archibald, 2013]. Таким образом, морфологическое сходство *Rhodelphis* и криптомонад (которые, вероятно, также родственны с архепластидами) достаточно интригующее, но в целом является лишь поверхностным.

Строение переходной зоны жгутиков *Rhodelphis* напоминает структуру у *Phalansterium* и голых амёб Pelobiontida, которые также имеют пробковидную диафрагму и тонкий цилиндр [Frolov et al., 2006; Hibberd, 1983; Shmakova et al., 2018].

Плазмалемма *Rhodelphis* покрыта уникальными гликостиями, которые несколько

похожи на гликостили некоторых голых амёб, таких как *Pellitida* и *Ovalopodium* [Kudryavtsev et al., 2014].

Жизненный цикл и стратегия питания *Rhodelphis* идентичны колпонемидам, которые также обладают крупной сократительной вакуолью на переднем апексе клетки и трубчатыми митохондриальными кристами [Tikhonenkov et al., 2014].

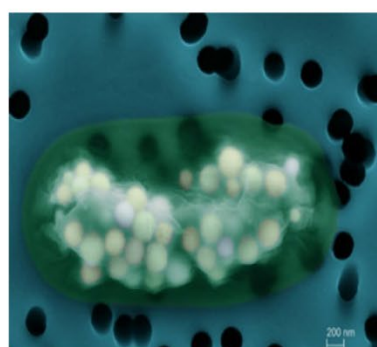
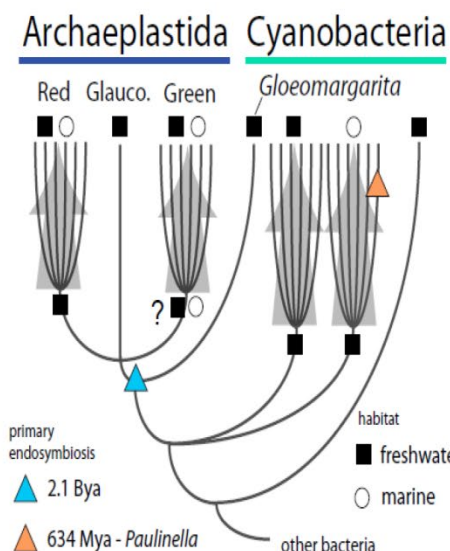
Хорошо развитый эндоплазматический ретикулум, окружающий клеточные органеллы, известен в нескольких группах протистов, включая апузомонад, хемимастигид, некоторых гетеролобозей и зооспоры хитридиевых грибов [Karpoff, Zhukov, 1986; Foissner et al., 1988; Pánek et al., 2014; Karpov et al., 2014; Letcher, Powell, 2014]. Но во всех случаях эти структуры представлены шероховатым эндоплазматическим ретикулумом в отличие от *Rhodelphis*, у которого гладкий эндоплазматический ретикулум формирует двуслойный мешок, окружающий ядро и все митохондрии, с отверстием напротив базальных тел жгутиков.

Прямое сравнение *Rhodelphis* с красными водорослями провести сложно, учитывая полное отсутствие жгутиков, базальных тел (и даже центриолей), корешковой системы жгу-

тиков у красных водорослей. В отличие от *Rhodolphis*, красные водоросли являются преимущественно многоклеточными организмами, и только несколько видов характеризуются кокковидной организацией. Клетки красных водорослей полностью окружены жесткой клеточной стенкой, что может объяснить отсутствие жгутикового аппарата. У *Rhodolphis* также отсутствует связь митохондрий и диктиосом, которая является характерной чертой красных водорослей [Pueschel, 1979]. Как правило, клетки красных водорослей содержат одну или несколько сильно разветвленных митохондрий с пластинчатыми кристами [Broadwater, Scott, 1986] в отличие от *Rhodolphis*, клетки которого содержат несколько неразветвленных митохондрий с трубчатыми кристами.

В отличие от красных водорослей, другие представители Archaeplastida имеют жгутики в жизненном цикле. Однако, зеленые во-

доросли Chloroplastida имеют изоконтные жгутики без типичных мастигоном. Переходная зона жгутиков зеленых водорослей и жгутиковых клеток растений имеет 1 или 2 поперечные пластинки и своеобразный звездчатый рисунок в поперечном сечении из-за наличия переходных фибрилл [Melkonian, 1984; Graham et al., 2009]. Базальные тела жгутиков Chloroplastida имеют отходящие крестообразные микротрубочковые корешки [Dutcher, O'Toole, 2016]. Митохондриальные кристы зеленых водорослей пластинчатые. Таким образом, *Rhodolphis* не похожи на жгутиковые клетки Chloroplastida. Гетероконтные жгутики глаукофитовых водорослей с двумя рядами тонких волосков-мастигоном более похожи на жгутики *Rhodolphis*. Но, опять же, глаукофитовые имеют крестообразную корешковую систему жгутиков, и их клетки ультраструктурно не похожи на клетки *Rhodolphis*.



Цианобактерия
Gloeomargarita lithophora



Щелочное озеро
Алчичика [Alchichica],
Мексика

Рис. 4. Схематический обзор основных событий в эволюции первичных пластид Archaeplastida, произошедших от цианобактерий. Цианобактерии *Gloeomargarita* характеризуются наличием общего предка с пластидами эукариотических красных, зеленых и глаукофитовых водорослей. Из: Lewis, 2017; Couradeau et al., 2012; <https://www.flickr.com/photos/nimmue/3769715658/in/photostream/>

Fig. 4. Schematic overview of the main events in the evolution of primary plastids of Archaeplastida originated from cyanobacteria. Cyanobacteria *Gloeomargarita* have common ancestor with plastids of red, green and glaucophyte eukaryotic algae. From: Lewis, 2017; Couradeau et al., 2012; <https://www.flickr.com/photos/nimmue/3769715658/in/photostream/>

Наличие специфических морфологических характеристик протистов из разных эукариотических супергрупп может указывать на очень древнее анцестральное морфологическое состояние клетки *Rhodolphis*. Предки Archaeplastida, возможно, также морфологически напоминали клетки *Rhodolphis*. Легко представить, что хищные жгутиконосцы, такие как *Rhodolphis*, способные питаться относительно крупной (6–9 мкм) добычей, могли по-

глотить крупные цианобактерии, которые стали первичными пластидами. Цианобактериальное происхождение первичных пластид в настоящее время не подвергается сомнению, но установление точного донора первичных пластид привлекает большое внимание исследователей. Недавно было установлено, что *Gloeomargarita lithophora*, цианобактерия из микробиолитов щелочных озер в Мексике, имеет общего предка с пластидами красных,

зеленых и глаукофитных водорослей, который, как предполагается, был пресноводным [Ponce-Toledo et al., 2017; Sánchez-Baracaldo et al., 2017; Lewis, 2017]. Хотя возможно, что первичные пластиды разных представителей Archaeplastida имеют независимое происхождение [Stiller, 2007; Burki et al., 2016], и анцестральная форма зеленых водорослей (будь то

морская или пресноводная) неясна [Leliaert et al., 2016]. Наши находки очень похожих морских и пресноводных хищных видов *Rhodolphis* подчеркивают возможность независимых эндосимбиотических событий с морскими и пресноводными близкими родственниками *Gloeomargarita*, которые дали начало первичным пластидам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мультигенный филогеномный анализ доказывает положение *Rhodolphis* как сестринской линии по отношению к красным водорослям. *Rhodolphis* является нефотосинтетическим хищным жгутиконосцем, имеющим первичную нефотосинтетическую пластиду, вовлеченную в биосинтез гема. Все это свидетельствует о том, что предок красных водорослей и организация его клетки сильно отличаются от того, что предполагалось ранее. Вероятно, предком красных водорослей и *Rhodolphis* являлся миксотрофный жгутиконосец, получавший энергию и питательные вещества как за

счет фотосинтетической пластиды, так и фаготрофно. Что предполагает, что фаготрофия сохранялась у Archaeplastida долгое время после дивергенции красных водорослей от зеленых растений и глаукофитовых. Открытие *Rhodolphis* несомненно показывает, что отсутствие фаготрофии и многих других признаков у Archaeplastida в целом обусловлено множественными конвергентными утратами в различных таксонах, но не уже сложившимся анцестральным состоянием их общего предка, как полагалось ранее.

Обзор выполнен в рамках государственного задания (тема № АААА-А18-118012690098-5).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Adl S.M., Bass D., Lane C.E., Lukes J., Schoch C.L. et al. 2019. Classification of eukaryotes: revisions to the classification, nomenclature and diversity of eukaryotes // J. Eukaryot. Microbiol. Vol. 66. № 1. P. 4–119.
- Bengtson S., Sallstedt T., Belivanova V., Whitehouse M. 2017. Three-dimensional preservation of cellular and subcellular structures suggests 1.6 billion-year-old crown-group red algae // PLoS Biol. Vol. 15. № 3. e2000735.
- Blouin N.A., Lane C.E. 2012. Red algal parasites: models for a life history evolution that leaves photosynthesis behind again and again // BioEssays. Vol. 34. P. 226–235.
- Broadwater S., Scott. J. 1986. Three-dimensional reconstruction of the chondriome of the unicellular red alga *Rhodella reticulata* // J. Cell Sci. Vol. 84. P. 213–219.
- Burki F., Kaplan M., Tikhonenkov D.V., Zlatogursky V., Minh B.Q., Radaykina L.V., Smirnov A., Mylnikov A.P., Keeling P.J. 2016. Untangling the early diversification of eukaryotes: a phylogenomic study of the evolutionary origins of Centrohelida, Haptophyta and Cryptista // Proc. Biol. Sci. Vol. 283. 20152802.
- Couradeau E., Benzerara K., Gérard E., Moreira D., Bernard S., Brown Jr. G.E., López-García P. 2012. An early-branching microbialite cyanobacterium forms intracellular carbonates // Science. Vol. 336, № 6080. P. 459–462.
- Dutcher S.K., O'Toole E.T. 2016. The basal bodies of *Chlamydomonas reinhardtii* // Cilia. Vol. 5, № 18. P. 1–7.
- Foissner W., Blatterer H., Foissner I. 1988. The Hemimastigophora (*Hemimastix amphikineta* nov. gen., nov. spec.), a new protistan phylum from Gondwanian soils // Eur. J. Protistol. Vol. 23. P. 361–383.
- Frolov A.O., Goodkov A.V., Chystjakova L.V., Skarlato S.O. 2006. Structure and development of *Pelomyxa gruberi* sp. n. (Peloflagellata, Pelobiontida) // Protistology. Vol. 4. P. 227–244.
- Gawryluk R., Tikhonenkov D.V., Hehenberger E., Husnik F., Mylnikov A.P., Keeling P.J. 2019. Non-photosynthetic predators are sister to red algae // Nature. Vol. 572. P. 240–243.
- Gornik S.G., Febrimarsa, Cassin A.M., MacRae J.I., Ramaprasad A., Rchiad Z., McConville M.J., Bacic A., McFadden G.I., Pain A., Waller R.F. 2015. Endosymbiosis undone by stepwise elimination of the plastid in a parasitic dinoflagellate // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 112. P. 5767–5772.
- Graham L.E., Graham J.M., Wilcox L.W. 2009 Algae (2nd edition). Pearson Education, San Francisco, CA. 720 p.
- Hibberd D.J. 1983. Ultrastructure of the colonial colourless flagellate *Phalansterium digitatum* Stein (*Phalansteriida* ord. nov.) and *Spongomonas uvella* Stein (*Spongomonadida* ord. nov.) // Protistologica. Vol. 19. P. 523–535.
- Janouškovec J., Tikhonenkov D.V., Burki F., Howe A.T., Kolisko M., Mylnikov A.P., Keeling P.J. 2015. Factors mediating plastid dependency and the origins of parasitism in apicomplexans and their close relatives // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 112. P. 10200–10207.
- Karpoff S.A., Zhukov B.F. 1986. Ultrastructure and taxonomic position of *Apusomonas proboscidea* Aléxiéeff // Arch. Protistenk. Vol. 131. P. 13–26.
- Karpov S.A., Kobseva A.A., Mamkaeva M.A., Mamkaeva K.A., Mikhailov K.V., Mirzaeva G.S., Aleoshin V.V. 2014. *Gromochytrium mamkaevae* gen. & sp. nov. and two new orders: Gromochytriales and Mesochytriales (Chytridiomycetes) // Persoonia. Vol. 32. P. 115–126.

- Keeling P.J. 2013. The number, speed, and impact of plastid endosymbioses in eukaryotic evolution // *Annu. Rev. Plant Biol.* Vol. 64. P. 583–607.
- Kim E., Archibald J.M. 2013. Ultrastructure and molecular phylogeny of the cryptomonad *Goniomonas avonlea* sp. nov. // *Protist.* Vol. 164. P. 160–182.
- Kudryavtsev A., Brown M.W., Tice A., Spiegel F.W., Pawlowski J., Anderson O.R. 2014. A revision of the order Peltidida Smirnov et al., 2011 (Amoebozoa, Discosea) based on ultrastructural and molecular evidence, with description of *Endostelium crystalliferum* n. sp. // *Protist.* Vol. 165. P. 208–229.
- Kugrens P., Lee R.E., Andersen R.A. 1987. Ultrastructural variations in cryptomonad flagella 1 // *J. Phycol.* Vol. 23. P. 511–518.
- Leliaert F., Tronholm A., Lemieux C., Turmel M., DePriest M.S., Bhattacharya D., Karol K.G., Fredericq S., Zechman F.W., Lopez-Bautista J.M. 2016. Chloroplast phylogenomic analyses reveal the deepest-branching lineage of the Chlorophyta, Palmophyllophyceae class. nov. // *Sci. Rep.* Vol. 6. 25367.
- Letcher P.M., Powell M.J. 2014. Hypothesized evolutionary trends in zoospore ultrastructural characters in Chytridiales (Chytridiomycota) // *Mycologia.* Vol. 106. P. 379–396.
- Lewis L.A. 2017. Hold the salt: Freshwater origin of primary plastids // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* Vol. 114. P. 9759–9760.
- Matsuzaki M., Misumi O., Shin-I T., Maruyama S., Takahara M. et al. 2004. Genome sequence of the ultrasmall unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* 10D // *Nature.* Vol. 428. P. 653–657.
- McFadden G.I., Reith M.E., Munholland J., Lang-Unnasch N., 1996. Plastid in human parasites // *Nature.* Vol. 381, № 6582. P. 482.
- Melkonian M. 1984. Flagellar apparatus ultrastructure in relation to green algal classification. In: *Systematics of the green algae.* Eds.: Irvine D. E G., John D.M. Academic Press, London pp. 73–120.
- Miyagishima S. 2011. Mechanism of Plastid Division: From a Bacterium to an Organelle // *Plant Physiology.* Vol. 155. P. 1533–1544.
- Pánek T., Ptáčková E., Čepička I. 2014. Survey on diversity of marine/saline anaerobic Heterolobosea (Excavata: Discoba) with description of seven new species // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* Vol. 64. P. 2280–2304.
- Ponce-Toledo R.I., Deschamps P., López-García P., Zivanovic Y., Benzerara K., Moreira D. 2017. An early-branching freshwater cyanobacterium at the origin of plastids // *Curr. Biol.* Vol. 27. P. 386–391.
- Pueschel C.M. 1979. Ultrastructure of tetrasporogenesis in *Palmaria palmata* (Rhodophyta) // *J. Phycol.* Vol. 15. P. 409–424.
- Qiu H., Price D.C., Yang E.C., Yoon H.S., Bhattacharya D. 2015. Evidence of ancient genome reduction in red algae (Rhodophyta) // *J. Phycol.* Vol. 51. P. 624–636.
- Ralph S.A., van Dooren G.G., Waller R.F., Crawford M.J., Fraunholz M.J., Foth B.J., Tonkin C.J., Roos D.S., McFadden G.I. 2004. Tropical infectious diseases: metabolic maps and functions of the *Plasmodium falciparum* apicoplast // *Nat. Rev. Microbiol.* Vol. 2. P. 203–216.
- Sánchez-Baracaldo P., Raven J.A., Pisani D., Knoll A.H. 2017. Early photosynthetic eukaryotes inhabited low-salinity habitats // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* Vol. 114. E7737–E7745.
- Shmakova L.A., Karpov S.A., Malavin S.A., Smirnov A.V. 2018. Morphology, biology and phylogeny of *Phalansterium arcticum* sp. n. (Amoebozoa, Variosea), isolated from ancient Arctic permafrost // *Eur. J. Protistol.* Vol. 63. P. 117–129.
- Stiller J.W. 2007. Plastid endosymbiosis, genome evolution and the origin of green plants // *Trends Plant Sci.* Vol. 12. P. 391–396.
- Tikhonenkov D.V., Janouškovec J., Mylnikov A.P., Mikhailov K.V., Simdyanov T.G., Aleoshin V.V., Keeling P.J. 2014. Description of *Colponema vietnamica* sp. n. and *Acavomonas peruviana* n. gen. n. sp., two new alveolate phyla (Colponemidia nom. nov. and Acavomonidia nom. nov.) and their contributions to reconstructing the ancestral state of alveolates and eukaryotes // *PLoS One.* Vol. 9. e95467.
- Worden A.Z., Follows M.J., Giovannoni S.J., Wilken S., Zimmerman A.E., Keeling P.J. 2015. Rethinking the marine carbon cycle: factoring in the multifarious lifestyles of microbes // *Science.* Vol. 347. 1257594.
- Xu P., Widmer G., Wang Y., Ozaki L.S., Alves J.M. et al. 2004. The genome of *Cryptosporidium hominis* // *Nature.* Vol. 431. P. 1107–1112.

REFERENCES

- Adl S.M., Bass D., Lane C.E., Lukes J., Schoch C.L. et al. 2019. Classification of eukaryotes: revisions to the classification, nomenclature and diversity of eukaryotes // *J. Eukaryot. Microbiol.* Vol. 66. № 1. P. 4–119.
- Bengtson S., Sallstedt T., Belivanova V., Whitehouse M. 2017. Three-dimensional preservation of cellular and subcellular structures suggests 1.6 billion-year-old crown-group red algae // *PLoS Biol.* Vol. 15. № 3. e2000735.
- Blouin N.A., Lane C.E. 2012. Red algal parasites: models for a life history evolution that leaves photosynthesis behind again and again // *BioEssays.* Vol. 34. P. 226–235.
- Broadwater S., Scott. J. 1986. Three-dimensional reconstruction of the chondriome of the unicellular red alga *Rhodella reticulata* // *J. Cell Sci.* Vol. 84. P. 213–219.
- Burki F., Kaplan M., Tikhonenkov D.V., Zlatogursky V., Minh B.Q., Radaykina L.V., Smirnov A., Mylnikov A.P., Keeling P.J. 2016. Untangling the early diversification of eukaryotes: a phylogenomic study of the evolutionary origins of Centrohelida, Haptophyta and Cryptista // *Proc. Biol. Sci.* Vol. 283. 20152802.

- Couradeau E., Benzerara K., Gérard E., Moreira D., Bernard S., Brown Jr. G.E., López-García P. 2012. An early-branching microbialite cyanobacterium forms intracellular carbonates // *Science*. Vol. 336, № 6080. P. 459–462.
- Dutcher S.K., O'Toole E.T. 2016. The basal bodies of *Chlamydomonas reinhardtii* // *Cilia*. Vol. 5, № 18. P. 1–7.
- Foissner W., Blatterer H., Foissner I. 1988. The Hemimastigophora (*Hemimastix amphikineta* nov. gen., nov. spec.), a new protistan phylum from Gondwanian soils // *Eur. J. Protistol.* Vol. 23. P. 361–383.
- Frolov A.O., Goodkov A.V., Chystjakova L.V., Skarlato S.O. 2006. Structure and development of *Pelomyxa gruberi* sp. n. (Peloflagellata, Pelobiontida) // *Protistology*. Vol. 4. P. 227–244.
- Gawryluk R., Tikhonenkov D.V., Hehenberger E., Husnik F., Mylnikov A.P., Keeling P.J. 2019. Non-photosynthetic predators are sister to red algae // *Nature*. Vol. 572. P. 240–243.
- Gornik S.G., Febrimarsa, Cassin A.M., MacRae J.I., Ramaprasad A., Rchiad Z., McConville M.J., Bacic A., McFadden G.I., Pain A., Waller R.F. 2015. Endosymbiosis undone by stepwise elimination of the plastid in a parasitic dinoflagellate // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 112. P. 5767–5772.
- Graham L.E., Graham J.M., Wilcox L.W. 2009 *Algae* (2nd edition). Pearson Education, San Francisco, CA. 720 p.
- Hibberd D.J. 1983. Ultrastructure of the colonial colourless flagellate *Phalansterium digitatum* Stein (*Phalansteriida* ord. nov.) and *Spongomonas uvella* Stein (*Spongomonadida* ord. nov.) // *Protistologica*. Vol. 19. P. 523–535.
- Janouškovec J., Tikhonenkov D.V., Burki F., Howe A.T., Kolisko M., Mylnikov A.P., Keeling P.J. 2015. Factors mediating plastid dependency and the origins of parasitism in apicomplexans and their close relatives // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 112. P. 10200–10207.
- Karpoff S.A., Zhukov B.F. 1986. Ultrastructure and taxonomic position of *Apusomonas proboscidea* Aléxéieff // *Arch. Protistenk.* Vol. 131. P. 13–26.
- Karpov S.A., Kobseva A.A., Mamkaeva M.A., Mamkaeva K.A., Mikhailov K.V., Mirzaeva G.S., Aleoshin V.V. 2014. *Gromochytrium mamkaevae* gen. & sp. nov. and two new orders: Gromochytriales and Mesochytriales (Chytridiomycetes) // *Persoonia*. Vol. 32. P. 115–126.
- Keeling P.J. 2013. The number, speed, and impact of plastid endosymbioses in eukaryotic evolution // *Annu. Rev. Plant Biol.* Vol. 64. P. 583–607.
- Kim E., Archibald J.M. 2013. Ultrastructure and molecular phylogeny of the cryptomonad *Goniomonas avonlea* sp. nov. // *Protist*. Vol. 164. P. 160–182.
- Kudryavtsev A., Brown M.W., Tice A., Spiegel F.W., Pawlowski J., Anderson O.R. 2014. A revision of the order Pelli-tida Smirnov et al., 2011 (Amoebozoa, Discosea) based on ultrastructural and molecular evidence, with description of *Endostelium crystalliferum* n. sp. // *Protist*. Vol. 165. P. 208–229.
- Kugrens P., Lee R.E., Andersen R.A. 1987. Ultrastructural variations in cryptomonad flagella 1 // *J. Phycol.* Vol. 23. P. 511–518.
- Leliaert F., Tronholm A., Lemieux C., Turmel M., DePriest M.S., Bhattacharya D., Karol K.G., Fredericq S., Zechman F.W., Lopez-Bautista J.M. 2016. Chloroplast phylogenomic analyses reveal the deepest-branching lineage of the Chlorophyta, Palmophyllophyceae class. nov. // *Sci. Rep.* Vol. 6. 25367.
- Letcher P.M., Powell M.J. 2014. Hypothesized evolutionary trends in zoospore ultrastructural characters in Chytridiales (Chytridiomycota) // *Mycologia*. Vol. 106. P. 379–396.
- Lewis L.A. 2017. Hold the salt: Freshwater origin of primary plastids // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 114. P. 9759–9760.
- Matsuzaki M., Misumi O., Shin-I T., Maruyama S., Takahara M. et al. 2004. Genome sequence of the ultrasmall unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* 10D // *Nature*. Vol. 428. P. 653–657.
- McFadden G.I., Reith M.E., Munholland J., Lang-Unnasch N., 1996. Plastid in human parasites // *Nature*. Vol. 381. № 6582. P. 482.
- Melkonian M. 1984. Flagellar apparatus ultrastructure in relation to green algal classification. In: *Systematics of the green algae*. Eds.: Irvine D. E G., John D.M. Academic Press, London pp. 73–120.
- Miyagishima S. 2011. Mechanism of Plastid Division: From a Bacterium to an Organelle // *Plant Physiology*. Vol. 155. P. 1533–1544.
- Pánek T., Ptáčková E., Čepička I. 2014. Survey on diversity of marine/saline anaerobic Heterolobosea (Excavata: Discoba) with description of seven new species // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* Vol. 64. P. 2280–2304.
- Ponce-Toledo R.I., Deschamps P., López-García P., Zivanovic Y., Benzerara K., Moreira D. 2017. An early-branching freshwater cyanobacterium at the origin of plastids // *Curr. Biol.* Vol. 27. P. 386–391.
- Pueschel C.M. 1979. Ultrastructure of tetrasporogenesis in *Palmaria palmata* (Rhodophyta) // *J. Phycol.* Vol. 15. P. 409–424.
- Qiu H., Price D.C., Yang E.C., Yoon H.S., Bhattacharya D. 2015. Evidence of ancient genome reduction in red algae (Rhodophyta) // *J. Phycol.* Vol. 51. P. 624–636.
- Ralph S.A., van Dooren G.G., Waller R.F., Crawford M.J., Fraunholz M.J., Foth B.J., Tonkin C.J., Roos D.S., McFadden G.I. 2004. Tropical infectious diseases: metabolic maps and functions of the *Plasmodium falciparum* apicoplast // *Nat. Rev. Microbiol.* Vol. 2. P. 203–216.
- Sánchez-Baracaldo P., Raven J.A., Pisani D., Knoll A.H. 2017. Early photosynthetic eukaryotes inhabited low-salinity habitats // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 114. E7737–E7745.

- Shmakova L.A., Karpov S.A., Malavin S.A., Smirnov A.V. 2018. Morphology, biology and phylogeny of *Phalansterium arcticum* sp. n. (Amoebozoa, Variosea), isolated from ancient Arctic permafrost // Eur. J. Protistol. Vol. 63. P. 117–129.
- Stiller J.W. 2007. Plastid endosymbiosis, genome evolution and the origin of green plants // Trends Plant Sci. Vol. 12. P. 391–396.
- Tikhonenkov D.V., Janouškovec J., Mylnikov A.P., Mikhailov K.V., Simdyanov T.G., Aleoshin V.V., Keeling P.J. 2014. Description of *Colponema vietnamica* sp. n. and *Acavomonas peruviana* n. gen. n. sp., two new alveolate phyla (Colponemidia nom. nov. and Acavomonidia nom. nov.) and their contributions to reconstructing the ancestral state of alveolates and eukaryotes // PLoS One. Vol. 9. e95467.
- Worden A.Z., Follows M.J., Giovannoni S.J., Wilken S., Zimmerman A.E., Keeling P.J. 2015. Rethinking the marine carbon cycle: factoring in the multifarious lifestyles of microbes // Science. Vol. 347. 1257594.
- Xu P., Widmer G., Wang Y., Ozaki L.S., Alves J.M. et al. 2004. The genome of *Cryptosporidium hominis* // Nature. Vol. 431. P. 1107–1112.

DISCOVERY OF NON-PHOTOSYNTHETIC PREDATORY RELATIVES OF RED ALGAE SHEDS LIGHT ON THE ORIGIN OF PHOTOSYNTHETIC EUKARYOTES

D. V. Tikhonenkov

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences,
152742 Borok, Russia, e-mail: tikho-denis@yandex.ru*

The article provides an overview of the paper published in the Nature journal in July 2019 devoted to the discovery of a new taxonomic phylum of predatory unicellular flagellates Rhodelphidia, which is a sister group to red algae. Surprisingly, the characteristics of Rhodelphidia are nearly opposite to those that define red algae. They are non-photosynthetic, flagellate predators (feeding on other protists) with gene-rich genomes, along with a relic primary plastid that probably participates in haem synthesis. Overall, finding of these organisms alter current views of the origin of Rhodophyta, and evolution of Archaeplastida (plants, green, red, and glaucophyte algae) as a whole, as they indicate that mixotrophic feeding – that is, a combination of predation and phototrophy – persisted well into the evolution of the group.

Keywords: Rhodelphidia, evolution of eukaryotes, photosynthesis, red algae, flagellates

ВНУТРИГЕННЫЕ ДУПЛИКАЦИИ У ДИАТОМОВЫХ ВОДОРОСЛЕЙ: ПОИСК И ВАЛИДАЦИЯ

А. А. Морозов

Лимнологический институт Сибирского отделения РАН,
664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3, e-mail: morozov@lin.irk.ru

Ранее было показано, что некоторые гены диатомовых водорослей содержат единую рамку считывания, кодирующую несколько конкатенированных копий белка, обычно существующего в мономерной и гомоолигомерной форме. В частности, наличие и экспрессия таких генов были показаны для трансмембранного транспортера кремния. Поиск с помощью BLAST показал, что у разных видов такую структуру имеют от 0.2% до 1% генов, предположительно случайно распределённых по функциональным категориям и компартментам. Часть таких генов у *Fragillaria radians* была подтверждена с помощью ПЦР, т.е. не является артефактами сборки. К их числу относятся гомологи метакспаз и трипсина, в норме активируемые протеолитически. Гипотетически, тот же механизм процессинга может быть ответственным за разделение многокопийного полибелка на функциональные субъединицы.

Ключевые слова: внутригенные дупликации, диатомовые водоросли, геномика, белоккодирующие гены.

DOI: 10.24411/0320-3557-2019-10026

ВВЕДЕНИЕ

Тандемные повторы широко распространены в аминокислотных последовательностях эукариот (они представлены приблизительно в 25% всех известных белков [Pellegrini et al. 2012]) и могут сильно различаться по длине и копийности мономеров. На одном конце спектра представлены очень короткие мономеры с очень высокой копийностью: например, коллагеновые триплеты – одна и та же тройка аминокислот, повторённая около тысячи раз с незначительным количеством замен. Существуют также относительно короткие (в десятки аминокислот) элементы с числом копий от двух до нескольких десятков, такие как повторы WD40 [Smith 2013] или лейцин-богатые повторы [Ng 2011], и белки, включающие несколько копий целого функционального домена [Moore et al. 2008; Schüller, Bornberg-Bauer 2016]. Очевидно, что наибольшим возможным мономером тандемного повтора будет полный белок. И действительно, существуют последовательности, представляющие собой несколько копий одного и того же белка, конкатенированных в пределах одной молекулы. Наиболее известные из них – процессируемые полибелки (например, полиубиквитин), но ими этот класс повторов не ограничивается. Известно, что многие трансмембранные транспортные белки состоят из двух более или менее одинаковых половин; считается, что они возникли в результате слияния двух частей предкового гомодимера в единую аминокислотную последовательность [Hennerdal et al. 2010; Ding et al. 2006].

Гены такой структуры были описаны и в диатомовых водорослях, относительно мало изученных с точки зрения геномики и молекулярной биологии. Интересным примером может служить

транспортер кремния SIT, ответственный за импорт в клетку необходимой для создания створок кремниевой кислоты. Этот белок включает 10 трансмембранных доменов и предположительно возник в результате дупликации 5-доменного древнего гомолога SIT-L [Marron et al. 2016]. Как уже упоминалось выше, такие события характерны для эволюции трансмембранных транспортеров; необычно то, что в дальнейшем гены *sit* претерпели неоднократные независимые дупликации или трипликации в нескольких группах диатомей, дав начало так называемым генам *multi-sit* [Durkin et al. 2016]. Молекулярный механизм их функционирования на данный момент неизвестен, но по крайней мере в двух родственных диатомовых водорослях (*Fragillaria radians* (Kütz) D. M. Williams & Round (= *Synedra acus* subsp. *radians* (Kütz) Skabitsch) и *Ulnaria danica* (Kütz) Compère & Bukhtiyarova (= *Synedra ulna* subsp. *danica* (Kütz) Skabitsch)) не-мультиплицированные гены *sit* не представлены [Marchenkov et al. 2018], что указывает на существование какого-то механизма, позволяющего импортировать кремниевую кислоту с помощью продуктов гена *multi-sit*. Проведённый на препарате суммарного белка *F. radians* иммуноблоттинг с антителами к SIT обнаружил белок, масса которого приблизительно соответствует не-мультиплицированному SIT [Petrova et al. 2007]. Эти результаты позволяют предположить, что существует некий механизм, обеспечивающий либо синтез одиночных белков с многокопийной мРНК, либо протеолитический процессинг полибелкового прекурсора SIT. В пользу второй гипотезы свидетельствует то, что во всех последовательностях multi-SIT на границах доменов представлен аспартат-богатый кон-

сервативный мотив DXDID, могущий служить сайтом разрезания для аналогичных каспазам протеаз. На функциональную значимость этого мотива указывает не только его консервативностью, но и то, что он присутствует во всех кладах multi-SIT, возникавших независимо друг от друга [Marchenkov et al. 2018], но отсутствует в однодоменных белках SIT.

Важно отметить, что все рассуждения о белке multi-SIT основываются на анализе соответствующего гена. В связи с немодельным статусом диатомовых водорослей экспериментальные данные об их белках очень немногочисленны, что делает любые гипотезы о работе мульти-

плицированных белков несколько спекулятивными. Тем не менее, в данной работе мной принята попытка собрать предварительный каталог диатом-специфичных протяжённых внутригенных дупликаций. Так как наборы данных, полученные методами секвенирования второго поколения, могут схлопывать действительно существующие мультигены или создавать артефактные (в результате некорректной сборки и/или аннотации), часть предсказанных генов также была подтверждена картированием прочтений PacBio [Бессмельцев и др. 2016 (Bessmel'tsev et al. 2016)] и ПЦР-амплификацией целевых фрагментов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для поиска мультиплицированных генов использовались аминокислотные последовательности, предсказанные на основании всех доступных геномов диатомовых водорослей (*Thalassiosira pseudonana* [Armbrust et al. 2004], *Phaeodactylum tricornutum* [Bowler et al. 2008], *Fistulifera solaris* [Tanaka et al. 2015], *Fragillaria radians* [Galachyants et al. 2015], *Fragillariopsis scylindrus* [Mock et al. 2017] и *Pseudo-nitzschia multiseriata*), а также транскриптомов проекта MMETSP [Keeling et al. 2014]. Последовательности длиной менее 100 аминокислот и последовательности, содержащие не менее 5% неопределённых позиций, исключались из анализа.

Все последовательности использовались в качестве запроса при поиске программой DIAMOND [Buchfink, Xie, Huson 2015] в отфильтрованной аналогичным образом базе данных NCBI nr. Ген считался мультиплицированным, если против последовательностей из базы данных для него генерировались множества HSP (High-scoring pairs, пары совпадающих участков), перекрывающихся в последовательности из базы данных, но не в запросе. Чтобы уменьшить количество ложноположительных результатов, использовались следующие пороговые значения: длина всех HSP не менее 100 аминокислот; e-value не более $1e-30$; перекрытие HSP не менее 50% длины меньшей из них; не менее 50% хитов должны содержать такую пару HSP. Последнее требование позволило нам избежать рассмотрения древних дупликаций, характерных для трансмембранных транспортёров, и сконцентрироваться на относительно недавних, преимущественно диатом-специфичных. Поскольку позиции HSP для последовательностей, содержащих участки низкой сложности (например, короткие tandemные повторы), очень ненадёжны, такие участки были маскированы dustmasker [Morgulis et al. 2006]. Белки, маскированные хотя бы на 40% их длины, исключались из дальнейшего анализа.

Анализ обогащения категорий GO проводился для видов, имеющих функциональную аннотацию, с помощью библиотеки goenrich для языка программирования Python 3.6 с использованием поправки множественных тестов Бенджамини-Хохберга.

Чтобы подтвердить, что обнаруженные последовательности не являются артефактом сборки, соответствующие фрагменты геномной сборки *Fragillaria radians* [Galachyants et al. 2015] были валидированы с помощью ранее полученных прочтений PacBio [Бессмельцев и др. (Bessmel'tsev et al. 2016)]. 450 тыс. прочтений cN50 = 18.2 тыс. пар н.о. были картированы на сборку с помощью BLASR [Chaisson, Tesler 2012]; участки, на которых расположены предположительно подвергшиеся внутригенной мультипликации последовательности, были проверены вручную на наличие прочтений, покрывающих обе копии мультиплицированного региона.

Параллельно поиск мультиплицированных генов был проведён в наборе белков, предсказанных из транскриптома *F. radians* (NCBI BioProject Accession No. PRJNA484600). Целью этого анализа было не обнаружение мультиплицированных белков *denovo*, а поиск доказательств транскрипции предсказанных из генома последовательностей.

Среди подтверждённых таким образом генов был выбран набор кандидатов, которые в дальнейшем тестировались с помощью ПЦР. В этот набор были включены все последовательности, которые не включают предсказанного интрона между повторяющимися элементами и все последовательности, которые поддерживаются транскриптомными данными, а также ряд других поддерживаемых прочтениями PacBio генов. Все они были амплифицированы на амплификаторе Agilent SureCycler 8800 (Agilent, США) с использованием наборов EncycloPCR (Евроген, Россия). Продукты амплификации разделялись в 1% ага-

розном геле и очищались с помощью наборов NEBMonarch (NewEnglandBiolabs, США).

После очистки смесь продуктов была отсе-
квенирована на 1 ячейке PacBioRSII в Цюрихском

Центре Функциональной Геномики для подтвер-
ждения последовательностей ампликонов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для большинства диатомей количество ге-
нов, содержащих протяжённые дубликации, со-
ставило от ~0.2% до 1% предсказанного протео-
ма (порядка десятков последовательностей), хотя
имеются и выбросы, содержащие значительно
большее число таких генов. Чтобы установить,
является ли такое число внутригеновых дублика-
ций характерным только для диатомей или об-
щим для широкого круга эукариот, аналогичный

анализ был проведён и для не-диатомовых
транскриптомов проекта MMETSP. Результаты
показаны на рис. 1: хотя самые значительные
выбросы и относятся к диатомеям, в общем кар-
тина для них мало отличается от других эукари-
от. Важно отметить, что использование для
сравнения только данных проекта MMETSP ве-
дёт к тому, что целые мегатаксоны (например,
Metazoa) из него исключены.

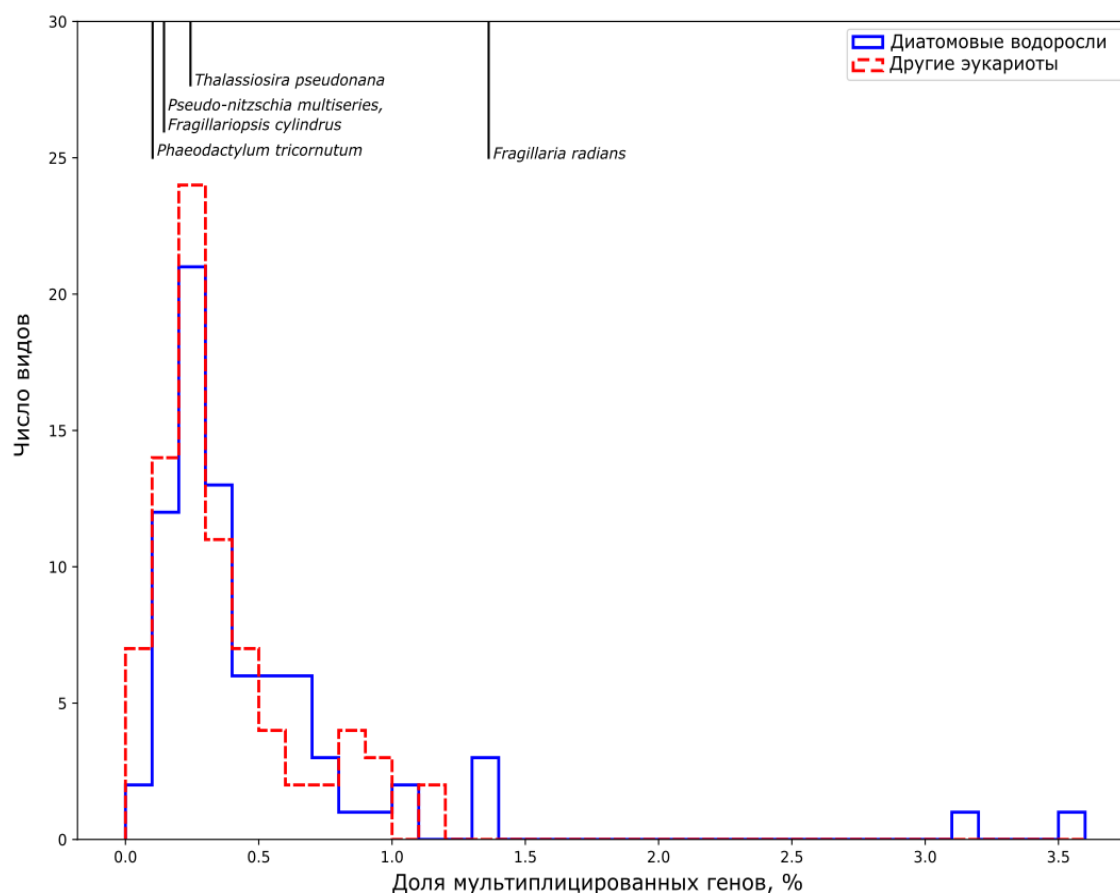


Рис. 1. Количество мультиплицированных генов в диатомовых водорослях (геномы и транскриптомы) и других эукариотах (транскриптомы проекта MMETSP). Линиями сверху показаны виды диатомей, для которых доступны полные геномы.

Fig. 1. The number of multiplied genes in diatoms (genomes and transcriptomes) and other eukaryotes (transcriptomes of the MMETSP project). The lines above show the species of diatoms for which complete genomes are available.

Такой выбор набора данных для сравнения объясняется двумя факторами: во-первых, последовательности подавляющего большинства видов диатомовых доступны только из этого проекта, поэтому его использование снижает риск артефактов, связанных с разницей методов секвенирования или биоинформатики. Хотя можно заметить, что немногочисленные виды диатомовых, для которых доступны полные ге-

номы (помечены чёрными полосами над гистограммой) распределены так же, как и транскриптомы MMETSP, что указывает на относительно малое влияние методов получения данных на число обнаруженных внутригеновых мультипликаций. Во-вторых, использованный метод поиска внутригеновых мультипликаций, строго говоря, не включает в себя поиска повторов внутри последовательности. Вместо этого ищутся после-

довательности, включающие в себя несколько копий участка, который у большинства последовательностей в базе данных представлен в единственной копии. Для таких подробно исследованных объектов, как *Homosapiens*, отсеквенировано множество родственных видов, что делает необнаружимыми относительно недавние (скажем, специфичные для рода *Homo*) дубликации и, следовательно, даёт не сопоставимые с диатомеями результаты.

Таким образом, из этих данных видно, что приблизительно полпроцента предсказанного протеома диатомей (как и других одноклеточных эукариот) сформировалось в результате внутри-

генных дубликаций. Чтобы установить, есть ли у этого набора генов какая-то функциональная специфичность, анализ обогащения категорий GO был проведён для тех видов, для которых имеется качественная аннотация (в данном случае это все виды, для которых секвенировался полный геном). У *Pseudo-nitzschia multiseries* и *Phaeodactylum tricornutum* ни одна категория не была достоверно обогащена на уровне $p \leq 0.05$. Результаты для остальных 4 видов показаны в табл. 1. В большинстве представлены трансмембранный транспорт и/или категории, связанные с мембраной, но однозначные тренды не выявляются.

Достоверно обогащённые категории Gene Ontology мультиплицированных генов для тех видов диатомей, для которых имеются опубликованные геномы

Gene Ontology categories significantly enriched among multiplied genes for diatom species where a genome sequences are available

Вид (Species)	Категория GO (GO category)	Класс категории (Class of category)	P-значение (P-value)
<i>Fragillariopsis cylindrus</i>	Phosphorybosylamine-glycine ligase activity	Molecular function	0.0013
	Purine nucleobase biosynthetic process	Biological process	0.0013
	Interspecies interaction between organisms	Biological process	0.0022
	Multi-organism process	Biological process	0.0022
	Outer membrane	Cellular component	0.0089
	Nucleobase biosynthetic process	Biological process	0.0134
	Nucleobase metabolic process	Biological process	0.0278
	Glucosidase activity	Molecular function	0.0411
	Hydrolase activity, hydrolyzing O-glycosyl	Molecular function	0.047
	Nucleotide catabolic process	Biological process	0.047
	Nucleotide phosphate catabolic process	Biological process	0.047
	Substituted mannan metabolic process	Biological process	0.0004
	Cellulase activity	Molecular function	0.0004
	Calmodulin binding	Molecular function	0.0056
<i>Fragilaria radians</i>	Mannosidase activity	Molecular function	0.0106
	Plasma membrane part	Cellular component	0.0044
	Plasma membrane	Cellular component	0.0044
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	Cell periphery	Cellular component	0.0044
	Integral component of plasma membrane	Cellular component	0.0154
	Intrinsic component of plasma membrane	Cellular component	0.0154
	Integrin complex	Cellular component	0.0202
	Cell-matrix adhesion	Biological process	0.0202
	Protein complex involved in cell adhesion	Cellular component	0.0202
	Plasma membrane receptor complex	Cellular component	0.0202
	Cell-substrate adhesion	Biological process	0.0202
	Receptor complex	Cellular component	0.0202
	Glucosidase activity	Molecular functions	0.0202
	Ion channel complex	Cellular component	0.0264
	Plasma membrane protein	Cellular component	0.0264
	Transporter complex	Cellular component	0.0264
	Cation channel complex	Cellular component	0.0264
	Transmembrane transporter complex	Cellular component	0.0264

Эти последовательности были предсказаны из полногеномных или полнотранскриптомных

наборов данных, и поэтому могут являться артефактами сборки и/или аннотации. Независимая

валидация была проведена для белков *F. radians*, одного из основных продуцентов в экосистеме озера Байкал. Полученные ранее прочтения PacBioSMRT были картированы на геномную сборку; результаты картирования на предсказанные дублицированные гены и 1 тыс. пар н.о. окрестностей анализировались вручную. Из 342 изначально предсказанных генов, 86 были исключены как не поддерживаемые данными PacBio. Параллельный анализ транскриптомных данных *F. radians* позволил выделить 28 транскрибирующихся мультиплицированных генов (включая паралоги). Этот транскриптом был получен с помощью Illumina и, следовательно, может содержать артефакты сборки. Поэтому присутствие гена в этом наборе не интерпретировалось как однозначное доказательство его экспрессии, так же как его отсутствие не считалось гарантией того, что последовательность в геномной сборке некорректна или псевдогенизирована.

66 генов были выбраны для экспериментальной валидации с помощью ПЦР участков, перекрывающихся с обеими копиями дублицированного региона. Набор составлялся таким образом, чтобы включить все присутствующие в транскриптоме последовательности, все последовательности, в которых повторяющиеся участки не разделены интроном, и часть поддерживаемых прочтениями PacBio генов, не относящихся ни к одному из этих классов. 23 из них не амплифицировались, а для ещё 4 не удалось подтвердить последовательность ампликона, что дало в итоге высококачественный валидированный набор из 28 мультиплицированных генов. Полный набор данных доступен по адресу <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.9579707>

6 генов из этого набора являются гетероконт- или диатом-специфичными, т.е. не имеют значимых BLAST-хитов против других эукариот и не содержат распознаваемых эукариотических доменов. Аналогичное количество диатом-специфичных генов обнаруживалось и в аннотациях геномов диатомей: 31.7% диатомовых ортологов (т.е. генов, имеющих ровно один гомолог во всех четырёх доступных к моменту публикации геномах) в геноме *F. radians* не имеют функциональной аннотации [Galachyants et al. 2015], а более трёх тысяч белоккодирующих генов в геноме *Thalassiosira pseudonana* (из 11 242) не имеют BLAST-хитов против модельных транскриптомов [Armbrust et al. 2004].

Валидированные мультиплицированные гены, роль которых в клетке может быть определена, отличаются функциональным разнообразием. Строгий статистический анализ категорий GeneOntology не может быть проведён из-за относительно небольшого размера этого набора

генов, но среди них представлены как ферменты (в частности, пируваткиназа и триптофан-тРНК синтетаза, две протеазы, убиквитин-лигаза, гликозил-трансферазы и гликозил-гидролазы), так и трансмембранный ABC-транспортёр, а также глобин-подобные белки.

Таким образом, полученный набор белков, сформировавшихся в результате внутригенных дубликаций, не демонстрирует значительных отличий от протеома в целом. Как и отсутствие общих достоверно обогащённых категорий GO среди дублицированных генов нескольких видов, этот факт указывает на то, что события внутригенной дубликации случайно распространены по всему геному. Это почти наверняка верно для самого события мутации; но сохранение дублицированного гена в ходе дальнейшей эволюции указывает на то, что дубликация даёт некое селективное преимущество или хотя бы не наносит большого вреда. Описанный во введении белок multi-SIT служит примером того, как продукт мультипликации продолжает сохраняться и экспрессироваться независимо в нескольких линиях [Durkin et al. 2016], а отсутствие его немультимплицированного гомолога не лишает клетку способности к поглощению кремния, т.е. синтезированный с такого гена белок так или иначе функционирует [Marchenkov et al. 2018]. Можно ожидать, что то же будет верно хотя бы для части обнаруженных мультигенов.

Хорошими кандидатами для дальнейшего анализа являются обнаруженные в геноме *F. radians* мультиплицированные протеазы, а именно дублицированный гомологи метакаспазы и трипсина (ID 14822 и 7053 соответственно). Функциональная значимость не-мультиплицированных гомологов этих протеаз для диатомовых была показана ранее [Choi, Berges 2013; Kinoshita et al. 2001], хотя экспериментальные данные по мультиплицированным генам на данный момент отсутствуют. Первым аргументом в пользу их биологической значимости является то, что такие белки предсказаны как из генома *F. radians*, так и из ряда транскриптомов, что делает маловероятным их “возникновение” из-за артефактов анализа. Второй, и более убедительный, состоит в том, что обе протеазы синтезируются в форме прекурсора и затем активируются протеолитически: метакаспазы разрезаются на p10- и p20-субъединицы, а от трипсина отрезается короткий N-терминальный пептид. Поэтому двухдоменная каспаза, например, может быть разрезана так же, как и однодоменная, производя как минимум по одной нормальной субъединице (по две, если разрезание также происходит по границе доменов). Аналогичным образом, как минимум C-терминальный домен двухдоменного трипсина

становится функциональным после удаления N-терминальной части (включая N-терминальную копию домена). Таким образом, после дублика-

ции белок сохраняет свою функцию, не вызывая нарушений в организме, и поэтому кодирующий его ген сохраняется.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что геномы диатомовых водорослей кодируют значительное количество белков, сформировавшихся в результате тандемной дубликации целого белка или большей его части. Существование 29 таких последовательностей в геноме *Fragilariaradians* подтверждено методами, не требующими сборки и аннотации (и, следовательно, свободными от их артефактов). По-

лученный набор генов включает как диатом- или гетероконт-специфичные белки с неизвестной функцией, так и представителей различных метаболических путей. Среди этих белков хорошими кандидатами для дальнейших экспериментальных исследований являются протеолитически активируемые протеазы.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-34-00441 “Подтверждение и анализ внутригенных мультипликаций у диатомовых водорослей”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бессмельцев В.П., Терентьев В.С., Вилейко В.В., и др. О создании платформы для исследования нуклеиновых кислот (ДНК-секвенатора) // Прикладная фотоника. 2016. Т. 3, № 4. С. 388–412.
- Armbrust E.V., Berges J.A., Bowler C. The genome of the diatom *Thalassiosira pseudonana*: ecology, evolution and metabolism // Science. 2004. Vol. 306, № 5693. P. 79–86.
- Bowler C., Allen A.E., Badger J.H. The *Phaeodactylum* genome reveals the evolutionary history of diatom genomes // Nature. 2008. Vol. 456, № 7219. P. 239–244.
- Buchfink B., Xie C., Huson D. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND // Nature Methods. Vol. 12. P. 59–60.
- Choi C.J., Berges A. 2013. New types of metacaspases in phytoplankton reveal diverse origins of cell death proteases // Cell Death and Disease. 2015. Vol. 4. P. e490.
- Ding G., Kang J., Liu Q et al. Insights into the coupling of duplication events and macroevolution from an age profile of animal transmembrane gene families // PLoS Comp. Bio. 2006. Vol. 2, № 8. P. e102.
- Durkin C.A., Mock Th., Armbrust E.V. The evolution of diatom-like silicon transporters in diatoms // J. Phycol. 2016. Vol. 52. P. 716–731.
- Galachyants Y.P., Zakharova Y.R., Petrova D.P. Sequencing of the complete genome of an araphid pennate diatom *Synedra acus* subsp. *radians* from lake Baikal // Doklady Biochem. Biophys. 2015. Vol. 461. P. 84–88.
- Hennerdal A., Falk J., Lindahl E., Elofsson A. Internal duplications in alpha-helical membrane protein topologies are common but the nonduplicated forms are rare // Protein Sci. 2010. Vol. 19, № 12. P. 2305–2318.
- Keeling P.J., Burki F., Wilcox H.M. et al. The marine microbial eukaryotic transcriptome sequencing project (MMETS): illuminating the functional diversity of eukaryotic life in the oceans through transcriptomic sequencing // PLoS Biology. 2014. Vol. 12, № 6. P. e1001889.
- Kinoshita S., Kaneko G., Lee J.H. et al. A novel heat stress-responsive gene in the marine diatom *Chaetoceros compressum* encoding two types of transcripts, a trypsin-like protease and its related protein, by alternative RNA splicing // The FEBS Journal. 2001. Vol. 268, № 17. P. 4599–4609.
- Marchenkov A.M., Petrova D.P., Morozov A.A. et al. A family of silicon transporter structural genes in a pennate diatom *Synedra ulna* subsp. *danica* (Kütz) Skabitsch // PLoS ONE. 2018. Vol. 13, № 8. P. e0203161.
- Marron A.O., Ratcliffe S., Wheeler G.L. et al. The evolution of silicon transport in eukaryotes. // Mol. Biol. Evol. 2016. Vol. 33, № 2. P. 3226–3248.
- Mock T., Otillar R.P., Strauss J. et al. Evolutionary genomics of the cold-adapted diatom *Fragilariopsis cylindrus* // Nature. 2017. Vol. 541, №7638. P. 536–540.
- Moore A.D., Björklund A.K., Ekman D., Bornberg-Bauer E., Elofsson A. Arrangements in the modular evolution of proteins // Trends Biochem. Sci. 2008. Vol. 33, № 9. P. 444–451.
- Morgulis A., Gertz E.M., Schäffer A.A., Agarwala R. 2006. A fast and symmetric DUST implementation to mask low-complexity DNA sequences // J. Comp. Bio. Vol. 13, № 5. P. 1028–1040.
- Ng A., Xavier R.J. Leucine-rich repeats (LRR) proteins: integrators of pattern recognition and signaling in immunity // Autophagy. 2011. Vol. 7, № 9. P. 1082–1084.
- Pellegrini M., Renda M.E., Vecchio A. Ab initio detection of fuzzy amino acid tandem repeats in protein sequences // BMC Bioinf. 2012. Vol. 13(S3). P. S8.
- Petrova D.P., Bedoshvili Y.D., Shelukhina I.V. et al. Detection of the silicic acid transport protein in the freshwater diatom *Synedra acus* by immunoblotting and immunoelectron microscopy // Doklady Biochem. Biophys. 2007. Vol. 471, № 1. P. 295–298.

- Schüler A., Bornberg-Bauer E. Evolution of protein domain repeats in Metazoa // Mol. Biol. Evol. 2016. Vol. 33, № 12. P. 3170–3182.
- Smith T.F. Diversity of WD-repeat proteins. In: Madame Curie Bioscience Database. Austin (TX): Landes Bioscience; 2000–2013.
- Tanaka T., Maeda Y., Veluchamy A. Oil accumulation by the oleaginous diatom *Fistulifera solaris* as revealed by the genome and transcriptome // The Plant Cell. 2015. Vol. 27. P. 162–176.

REFERENCES

- Armbrust E.V., Berges J.A., Bowler C. 2004. The genome of the diatom *Thalassiosira pseudonana*: ecology, evolution and metabolism // Science. Vol. 306, № 5693. P. 79–86.
- Bessmel'tsev V.P., Terent'ev V.S., Vileiko V.V. et al. 2016. O sozdanii platformy dlya isslidovaniya nukleinovyykh kislot (DNK-sekvenatora) [Development of the platform for nucleic acid analysis (DNA sequencer)] // Prikladnaya Fotofizika. T. 3., № 4. S. 388–412. [In Russian]
- Bowler C., Allen A.E., Badger J.H. 2008. The *Phaeodactylum* genome reveals the evolutionary history of diatom genomes // Nature. Vol. 456, № 7219. P. 239–244.
- Buchfink B., Xie C., Huson D. 2015. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND // Nature Methods. Vol. 12. P. 59–60.
- Choi C.J., Berges A. 2013. New types of metacaspases in phytoplankton reveal diverse origins of cell death proteases // Cell Death and Disease. Vol. 4. P. e490.
- Ding G., Kang J., Liu Q et al. 2006. Insights into the coupling of duplication events and macroevolution from an age profile of animal transmembrane gene families // PLoS Comp. Bio. Vol. 2, № 8. P. e102.
- Durkin C.A., Mock Th., Armbrust E.V. 2016. The evolution of diatom-like silicon transporters in diatoms // J. Phycol. Vol. 52. P. 716–731.
- Galachyants Y.P., Zakharova Y.R., Petrova D.P. 2015. Sequencing of the complete genome of an araphid pennate diatom *Synedra acus* subsp. *radians* from lake Baikal // Doklady Biochem. Biophys. Vol. 461. P. 84–88.
- Hennerdal A., Falk J., Lindahl E., Elofsson A. 2010. Internal duplications in alpha-helical membrane protein topologies are common but the nonduplicated forms are rare // Protein Sci. Vol. 19., № 12. P. 2305–2318.
- Keeling P.J., Burki F., Wilcox H.M. et al. 2014. The marine microbial eukaryotic transcriptome sequencing project (MMETS): illuminating the functional diversity of eukaryotic life in the oceans through transcriptomic sequencing // PLoS Biology. Vol. 12, № 6. P. e1001889.
- Kinoshita S., Kaneko G., Lee J.H. et al. 2001. A novel heat stress-responsive gene in the marine diatom *Chaetoceros compressum* encoding two types of transcripts, a trypsin-like protease and its related protein, by alternative RNA splicing // The FEBS Journal. Vol. 268, № 17. P. 4599–4609.
- Marchenkov A.M., Petrova D.P., Morozov A.A. et al. 2018. A family of silicon transporter structural genes in a pennate diatom *Synedra ulna* subsp. *danica* (Kütz) Skabitsch. // PLoS ONE. Vol. 13, № 8. P. e0203161.
- Marron A.O., Ratcliffe S., Wheeler G.L. et al. 2016. The evolution of silicon transport in eukaryotes // Mol. Biol. Evol. Vol. 33, № 2. P. 3226–3248.
- Mock T., Otillar R.P., Strauss J. et al. 2017. Evolutionary genomics of the cold-adapted diatom *Fragillariopsis cylindrus* // Nature. Vol. 541, № 7638. P. 536–540.
- Moore A.D., Björklund A.K., Ekman D., Bornberg-Bauer E., Elofsson A. 2008. Arrangements in the modular evolution of proteins // Trends Biochem. Sci. Vol. 33, № 9. P. 444–451.
- Morgulis A., Gertz E.M., Schäffer A.A., Agarwala R. 2006. A fast and symmetric DUST implementation to mask low-complexity DNA sequences // J. Comp. Bio. Vol. 13, № 5. P. 1028–1040.
- Ng A., Xavier R.J. 2011. Leucine-rich repeats (LRR) proteins: integrators of pattern recognition and signaling in immunity // Autophagy. Vol. 7, № 9. P. 1082–1084.
- Pellegrini M., Renda M.E., Vecchio A. 2012. Ab initio detection of fuzzy amino acid tandem repeats in protein sequences. // BMC Bioinf. Vol. 13(S3). P. S8.
- Petrova D.P., Bedoshvili Y.D., Shelukhina I.V. et al. 2007. Detection of the silicic acid transport protein in the freshwater diatom *Synedra acus* by immunoblotting and immunoelectron microscopy // Doklady Biochem. Biophys. Vol. 471, № 1. P. 295–298.
- Schüler A., Bornberg-Bauer E. 2016. Evolution of protein domain repeats in Metazoa // Mol. Biol. Evol. Vol. 33, № 12. P. 3170–3182.
- Smith T.F. Diversity of WD-repeat proteins. In: Madame Curie Bioscience Database. Austin (TX): Landes Bioscience; 2000–2013.
- Tanaka T., Maeda Y., Veluchamy A. 2015. Oil accumulation by the oleaginous diatom *Fistulifera solaris* as revealed by the genome and transcriptome // The Plant Cell. Vol. 27. P. 162–176.

INTRAGENIC DUPLICATIONS IN DIATOM ALGAE: BIOINFORMATIC SEARCH AND EXPERIMENTAL VALIDATION

A. A. Morozov

Limnological Institute SB RAS

664033, Irkutsk, Ulan-Batorskaya st., 3. E-mail: morozov@lin.irk.ru

In some species of diatom algae the silicon transporter gene has a characteristic structure, encoding several copies of the silicon transporter protein concatenated within a single open reading frame. The BLAST-based search has shown that, on average, approximately 0.5% of diatom genes contain two or three copies of the structure which, in other organisms, is single-copy. Based on the GO enrichment analysis, there are no reliable trends in either function or intracellular localization of their products. However, all these sequences come from NGS data and therefore can be just assembly artifacts. To make sure that this is not the case, a number of *Fragilaria radians* multi-copy genes were amplified using PCR and sequenced on PacBio RS II. These experiments have produced a validated set of 28 sequences which certainly do exist in the genome; some of them are also present in the transcriptomic data. Two of them are proteases whose homologs (type III metacaspases and trypsin) are activated proteolytically. The mechanisms involved in this proteolysis may have been recruited to process multi-copy protease precursors, which would make them functional without the need to evolve a novel processing system.

Keywords: Gene duplication, Diatoms, Genomics, protein-coding genes

BACTERIA DIVERSITY AND ITS CONNECTION WITH THE FUNCTIONING OF FRESHWATER ECOSYSTEMS

E. V. Kuznetsova, D. B. Kosolapov

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences,
152742 Borok, Russia, e-mail: elivic.rum@gmail.com*

Microscopic and molecular-genetic methods are used to detect diversity of bacterial communities. While microscopic methods allow identifying bacteria only based on volumes and morphology, molecular-genetic methods utilize diagnostic features unique for each OTU. At the same time, cryptic level of bacterial diversity needed for maintaining sustainable functioning of aquatic ecosystems remains undefined. The reasons for that lie in the difficulty of determination of alpha-diversity of bacterial communities as well as functional redundancy of bacteria.

Keywords: bacterioplankton, sequencing, alpha- and beta-diversity, taxonomic composition, functional redundancy, freshwater ecosystems

DOI: 10.24411/0320-3557-2019-10027

Currently, studies on the diversity of bacteria and other microorganisms are at the stage of identifying and describing new taxa of various ranks. Only a small part of microbe species is described validly. Due to the small size of microorganisms, suitable methods for their identification *in situ* have been developed relatively recently – in the 1980s. Until this time, classical microbiology relied on the cultivation of microorganisms in the laboratory. However, already in the 1950s it was found that bacteria growing on laboratory media make up a small part (usually about 1%) of the natural community [Jannasch, Jones, 1959]. In the early 1990s, cultivation-independent molecular methods began to be used to identify microorganisms directly in nature [Giovannoni et al., 1990; Ward et al., 1990]. Direct nucleic acid sequencing (which we use today) is based on the analysis of 16S rRNA gene sequences. It was found that this gene is well suited for determining the phylogeny of bacteria and their identification [Woese, 1987].

Similarity in 16S rRNA is the basis in the classification of bacteria and archaea. They are grouped into the so-called operational taxonomic units (OTUs), since there is still no adequate definition of the species [Achtman, Wagner, 2008]. Accordingly, the alpha diversity of bacteria is a richness of communities, i.e. the number of OTUs that can be found in a particular habitat [Limolino et al., 2006]. At present, thousands or even millions of 16S rRNA gene sequences can be easily obtained from a single sample, although even several hundred were considered a good result quite recently, in the beginning of the 21st century. However, 1 ml of lake water contains about 10^6 bacterial cells, i.e. DNA extracted from 100 ml of water is the DNA of 10^8 bacteria [Robarts, Carr, 2009]. In other words, even at the most ambitious sequencing coverage, when using the entire volume of the selected material, 10^2 – 10^3 fewer bacteria are analyzed than with direct microscopy. In

addition, 100 ml is only a small portion of the water in the lake. Thus, we slowly describe communities, and the possibility of measuring the alpha diversity of microorganisms in nature is being questioned [Curtis, Sloan, 2005]. In addition, microbial communities are characterized by low evenness consisting of multiple abundant and a huge number of rare taxa [Pedrós-Alió, 2006], which complicates the identification of the rarest community members [Curtis, Sloan, 2005]. Currently, it is believed that the depth of sequencing up to 20000 sequences per sample of natural water is insufficient for a reliable assessment of alpha diversity [Lundin et al., 2012]. Modern studies use a sequencing depth of up to 120000 sequences per sample, and more often even a deep metagenome [Mo et al., 2018; Yu et al., 2019].

Another aspect of diversity is differences in the composition of communities, for example, between lakes. At present, it has been shown that microbial beta diversity [Limolino et al., 2006] is affected by both local (pH, organic matter content, consumption of proto- and metazooplankton, etc.) and regional factors [Martiny et al., 2006; Hanson et al., 2012]. The most studied regional process is the change in the lake communities' composition due to massive introduction of cells from neighboring communities [Leibold et al., 2004], such as the soils of water body basins [Crump et al., 2012; Read et al., 2015; Ruiz-González et al., 2015]. Therefore, the biogeography of microorganisms of lakes, apparently, cannot be understood without studying the catchment areas of lakes they inhabit. For example, three complexes (communities) of the bacterioplankton significantly different in taxonomic composition and structure formed, among other things, due to the biogeochemical influence of the surrounding landscape (biome): mountainous taiga (upper part of the river), plain taiga (middle section) and forest-tundra and tundra (lower section) were identified from one of the

largest rivers in the world — the Yenisei [Kolmakova et al., 2014].

To date, studies on the taxonomic composition and diversity of bacteria from different types of water bodies based on various next-generation sequencing technologies that differ in productivity have been carried out [Logares et al., 2012; Lee, Eom, 2016]. Various indices are used to assess the diversity of aquatic bacteria communities. The Shannon index is used to characterize the diversity and evenness of the community, i.e. the more species there are in the community and the smaller the fluctuation in their abundance, the higher is the Shannon index value. The Shannon index usually varies from 1.5 to 3.5, very rarely

exceeding 4.5 when used to assess the diversity of eukaryotes [Lebedeva et al., 2002]. The study of various types of aquatic ecosystems revealed, in particular, that 1) freshwater bacterioplankton is more diverse than marine [Matishov et al., 2015; Zwart et al., 2002; Newton et al., 2011; Fortunato et al., 2012; Eiler et al., 2014; Lee, Eom, 2016]; 2) bacterioplankton is more diverse than bacterioplankton [Galachyants et al., 2017]; 3) more OTUs are detected in freshwater bacteria communities in the warm season, than in the cold season [Qu et al., 2018]; 4) the diversity is higher during the wet season, than in the dry season [Avila et al., 2017] (Table).

Shannon index of freshwater and marine bacterial communities

Method	Object	Shannon index	Sampling period	Source
454- prosequencing (Roche)	Taiwan Strait at Xiamen Islands (China)	3.65–5.88	July 2012	Shan et al., 2015
	Santa Anna River (California, United States)	4.17–4.93	Interannual studies in the early 2000's	Ibekwe et al., 2016
	The Sea of Azov	2.81–3.27	August 2012	Matishov et al., 2015
	Surface microfilm Lake Baikal	3.0–3.4	May 2013	Galachyants et al., 2017
	Water column (5 m depth), Lake Baikal	4.67	June 2010	Parfenova et al., 2013
	Carioca River (Brazil)	3.8–4.4	Wet Season, December 2013	Avila et al., 2017
		3.4–3.8	Dry season, August 2013	
	Lake Gambazinho (Brazil)	3.3–4	Wet Season, December 2013	
		3.4	Dry season, August 2013	
	Durgun water reservoir (Mongolia)	3.60–5.00	August 2015	Own data
	Tayshir water reservoir (Mongolia)	2.51–4.67		
	Hangang River (Khan) (South Korea)	5.61	December 2015 – January 2016	Lee, Eom, 2016
	Yellow Sea (South Korea)	5.22		
	Hangang River (Khan) (South Korea)	7.33		
Sequencing on Miseq (Illumina)	Yellow Sea (South Korea)	7.15		
	Yenisei River	6.89–8.25	June 2012	Kolmakova, 2014
	Artificially polluted lagoon (China)	3.20–4.79	April 2016 – July 2017	Lin et al., 2018

The composition of the microbial communities of water bodies is affected by many factors, such as the quantity and quality of organic matter, temperature, pH, UV radiation intensity, morphometric and hydrological characteristics of the water body, etc. [Kopylov, Kosolapov, 2011]. One of the

most important factors is salinity [Tamames et al., 2010]. Periodic changes in abiotic and biotic factors result in bacterial communities of lakes and rivers exhibiting recurring seasonal dynamics [Crump et al., 2009; Jones et al., 2012]. A significant part of bacterioplankton is composed of orga-

no-heterotrophs using organic compounds as a source of carbon and energy, and therefore their seasonal dynamics should not be directly related to the illumination level as observed in phytoplankton [Madigan et al., 2011]. However, since the composition of the bacterial community depends on the concentration of easily oxidizable organic substances [Crump et al., 2003; Pérez, Sommaruga, 2006], a significant part of which is secreted by phytoplankton [Guillemette et al., 2016], the development of phytoplankton determines the seasonal succession of bacterioplankton [Paver et al., 2013; Salcher, 2014]. Differences in the resistance of aquatic bacteria populations to proto- and metazooplankton predation and to viral lysis affect the seasonal dynamics of bacterioplankton, as well [Salcher, 2014]. Long time series are required to identify the patterns of seasonal changes in microbial communities [Jones et al., 2012].

It is also likely that the diversity of bacteria is related to the size-morphological structure of their community. Natural factors, such as the “top-down” and “bottom-up” control, acting in certain water bodies in certain seasons, have a primary influence on certain size-morphological groups of bacteria. Single and attached to detritus bacteria are isolated in bacterioplankton. Their taxonomic composition also varies due to significant differences in the conditions of existence [DeLong et al., 1993; Crump et al., 1998; Acinas et al., 1999; Fandino et al., 2001; Moeseneder et al., 2001; Allgaier, Grossart, 2006; Grossart et al., 2006; Rink et al., 2007; Ghiglione et al., 2009; Rieck et al., 2015]. In the Baltic Sea, the community of aggregated bacteria differed from the community of single bacteria and was more diverse [Rieck et al., 2015]. However, no significant differences were found between these communities in a number of water bodies [Hollibaugh et al., 2000; Riemann, Winding, 2001; Stevens et al., 2005; Ghiglione et al., 2007; Rink et al., 2008; Ortega-Retuerta et al., 2013]. The ambiguity of the obtained data is explained by the fact that the communities of aggregated and single bacteria are dynamic, and the constant interaction between bacteria and suspended particles is accompanied by active attachment and detachment of bacteria [Riemann, Winding, 2001; Kjørboe et al., 2003; Crespo et al., 2013]. Marine and freshwater communities of aggregated bacteria differ from each other: *Betaproteobacteria* were the most abundant group on organic macro-aggregates (“river snow”) in the Elba River [Bockelmann et al., 2000] and “lake snow” in Lake Constance [Weiss et al., 1996; Schweitzer et al., 2001], while *Cytophaga*, *Planctomyces* and *Gammaproteobacteria* domi-

nated on the “sea snow” in the Santa Barbara Canal [DeLong et al., 1993].

Bacterial populations in nature are characterized by certain sizes and shapes of cells, and, accordingly, a specific ratio of surface area to the volume of cells, which affects their metabolic activity. Using microscopic methods, it was found that small (0.2–0.35 μm in diameter) and medium-sized (0.35–0.45 μm in diameter) cocci and coccobacilli dominate in the bacterioplankton of most water bodies. Small rods (up to 2 microns long) also occupy a significant share in the community. Large rods ($\geq 2 \mu\text{m}$ long), filamentous bacteria, bacteria that form microcolonies and cell chains, and associated with detritus, as well as large cocci (with a diameter of more than 0.45 μm) are less common. Protozoans seem to selectively eradicate large and active bacteria from the *Betaproteobacteria* and *Gammaproteobacteria* and *Bacteroidetes* phyla, leaving small bacteria from the *Alphaproteobacteria* class and medium-sized bacteria from the *Actinobacteria* phyla as dominants in the community. In our studies, it was noted that the size-morphological structure of bacterioplankton formed by consumers is accompanied by a change in the space of subdominant taxa that apparently perform similar functions in reservoir ecosystems [Kuznetsova et al., 2019].

The study of the relationships between biodiversity and ecosystem functioning is an urgent topic in the ecology of microorganisms [Cardinale et al., 2012]. Given the importance of aquatic bacteria in the biogeochemical cycles of elements, it is interesting to know how the diversity and composition of bacterial communities affect their functions in water bodies. Studies conducted in this direction have shown that the functioning of the community is enhanced with an increase in species richness [Cardinale et al., 2012; Mittelbach, 2012], which is confirmed by the results of laboratory experiments [Bell et al., 2005]. The mechanism underlying this pattern can be, for example, complementarity, when an increase in richness leads to increased functionality through more efficient use of available ecological niches [Mittelbach, 2012].

One of the key roles of bacteria in nature is the use of dissolved organic substances and the formation of biomass, which is either consumed by other organisms in the ecosystem or released as carbon dioxide during breathing. Theoretically, complementarity in the bacterial community can lead to a wider use of the pool of dissolved organic matter (DOM), since different bacteria use different fractions of this pool, which can affect the functioning of the ecosystem. However, little is still known about how different bacterial species

use different parts of the DOM pool, partly because the methodological limitations and the complex composition of organic matter still prevent its full chemical characterization [Kellerman et al., 2014]. It was shown that different members of the bacterial community decompose different fractions of organic matter [Logue et al., 2016]. At the same time, it was found that there are no strict relationships between the alpha diversity of bacteria and the chemical composition of organic matter [Martiny et al., 2013]. One of the concepts intensively discussed in this context is functional redundancy, which implies that different taxa perform similar functions in the ecosystem [Lawton, 1994; Allison, Martiny, 2008]. If there is a certain degree of functional redundancy when it comes to the use of various organic substrates, knowledge of the composition and diversity of bacterial communities in lakes will not have a big impact on our understanding of the mineralization of organic substances and the role of bacteria in water bodies. However, bacteria, in addition to mineralization of OM, perform other functions, such as methane consumption. This function of bacteria is closely related to their taxonomy [Martiny et al., 2013]. Therefore, the question is whether the composition of the bacterial community affects

the role of lakes as sources of atmospheric methane and, therefore, its concentration in the atmosphere. Thus, the question of whether the diversity of bacteria and the functioning of ecosystems are related depends on what functions of bacteria are considered [Martiny et al., 2013]. For example, the taxonomy of bacteria may be more important when studying the decomposition of high molecular weight compounds than low molecular weight compounds [Logue et al., 2016].

Monitoring the diversity of bacterial communities and the environmental factors influencing them will allow determining the critical level of diversity necessary to maintain the sustainability of ecosystem functioning [Carolina, 2018]. Today there are alternative methods of analysis for these purposes. For example, analysis of the V3–V4 region of the 16S rRNA gene ~470 bp in length, performed on Illumina resolves microbiomes up to genus level. Analysis of the complete 16S rRNA gene with a length of ~1500 bp, performed on Nanopore resolves microbiomes to species level. The second method is more efficient, but the first is still the standard for this type of analysis and may not lose this status in the near future.

REFERENCES

- Galach'yants A. D., Bel'kova N. L., Sukhanova E. V. et al. 2017. Osobennosti taksonomicheskogo sostava bakterionistonnykh soobshchestv ozera Baikal [The features of taxonomic composition of bacterioneustonic communities of Lake Baikal] // *Mikrobiologiya*. T. 86. № 2. S. 229–238. [in Russian]
- Kolmakova O. V. 2014. Opredelenie vidovogo sostava planktonnykh bakterii basseina reki Enisey molekulyarnogeneticheskimi metodami I experimental'noe issledovanie ikh biogeokhimicheskikh funktsii. The determination of the species composition of planktonic bacteria of the Yenisei river basin by molecular genetic methods and experimental study of their biogeochemical functions]. Diss. kand. boil. nauk. Krasnoyarsk, 2014. 120 s. [in Russian]
- Kopylov A. I., Kosolapov D. B. 2011. Mikrobnaya "petlya" v planktonnykh soobshchestvakh morskikh I presnovodnykh ecosystem. [Microbial "loop" in plankton communities of marine and freshwater ecosystems]. Izhevsk: KnigoGrad. 332 s. [in Russian]
- Kuznetsova E. V., Kosolapov D. B., Kosolapova N. G. 2019. Taxonomicheskaya i razmerno-morfologicheskaya struktura bakterioplanktona dvukh vodokhranilishch Mongolii [Taxonomic and size-morphological structure of bacterioplankton of two reservoirs of Mongolia] // *Izvestiya RAN. Seriya biologicheskaya*. T. 6. S. 1–8. [in Russian]
- Lebedeva N. V., Krivolutskiy D. A., Puzachenko Yu. G. et al. 2002. Geografiya i monitoring bioraznoobraziya [Geography and biodiversity monitoring]. M.: Izdatel'stvo nauchnogo i uchebno-metodicheskogo tsentra. 432 s. [in Russian]
- Matishov D. G., Stakheev V. V., Chirak E. L., Glushchenko G. Yu. 2015. Metagenomnyi analiz struktury bakteriального soobshchestva Azovskogo morya // *Okeanologiya*. T. 55. № 5. S. 770–775. [in Russian]
- Parfyonova V. V., Gladkikh A. S., Belykh O. I. 2013. Sravnitel'nyy analiz bioraznoobraziya bakteriálnykh soobshchestv plankton i bioploynki v ozere Baikal // *Mikrobiologiya*. T. 82. № 1. S. 94–105. [in Russian]
- Allgaier M., Grossart H.-P. 2006. Diversity and seasonal dynamics of Actinobacteria populations in four lakes in Northeastern Germany // *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 72. № 5. C. 3489–3497.
- Achtman M., Wagner M. 2008. Microbial diversity and the genetic nature of microbial species // *Nat. Rev. Microbiol.* Vol. 6. P. 431–440.
- Acinas S. G., Anton J., Rodrigues-Valera F. 1999. Diversity of free-living and attached bacteria in offshore Western Mediterranean waters as depicted by analysis of genes encoding 16S rRNA // *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 65. № 2. P. 514–522.
- Allison S. D., Martiny J. B. H. 2008. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 105. P. 11512–11519.

- Avila M. P., Staehr P. A., Barbosa F. A. R. et al. 2017. Seasonality of freshwater bacterioplankton diversity in two tropical shallow lakes from the Brazilian Atlantic Forest // *FEMS Microbiol. Ecol.* Vol. 93. № 1: fiw218.
- Bell T., Newman J. A., Silverman B. W. et al. 2005. The contribution of bacterial richness and composition to bacterial services // *Nature*. Vol. 436. P. 1157–1160.
- Böckelmann U., Manz W., Neu T. R., Szewzyk U. 2000. Characterization of the microbial community of lotic organic aggregates ("river snow") in the Elbe river of Germany by cultivation and molecular methods // *FEMS Microbiol. Ecol.* Vol. 33. P. 157–170.
- Cardinale B. J., Duffy J. E., Gonzalez A. et al. 2012. Biodiversity loss and its impact on humanity // *Nature*. Vol. 486. P. 59–67.
- Carolina Z. F. A. 2018. Microbial diversity: genetic diversity vs functional diversity // *J. Microbiol. Exp.* Vol. 6. № 1: 00184.
- Crespo B. G., Pommier T., Fernández-Gómez B., Pedrós-Alió C. 2013. Taxonomic composition of the particle-attached and free-living bacterial assemblages in the Northwest Mediterranean Sea analyzed by pyrosequencing of the 16S rRNA // *Microbiol.* Vol. 2. P. 541–552.
- Crump B. C., Baross J., Simenstad C. 1998. Dominance of particle-attached bacteria in the Columbia River Estuary, USA // *Aquat. Microb. Ecol.* Vol. 14. № 1. P. 7–18.
- Crump B. C., Amaral-Zettler L. A., Kling G. W. 2012. Microbial diversity in arctic freshwaters is structured by inoculation of microbes from soil // *ISME J.* Vol. 6. P. 1629–1639.
- Crump B. C., Kling G. W., Bahr M. et al. 2003. Bacterioplankton community shifts in an arctic lake correlate with seasonal changes in organic matter source // *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 69. P. 2253–2268.
- Crump B. C., Peterson B. J., Raymond P. A. et al. 2009. Circumpolar synchrony in big river bacterioplankton // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 106. P. 21208–21212.
- Curtis T. P., Sloan W. T. 2005. Exploring microbial diversity: a vast below // *Science*. Vol. 309. P. 1331–1333.
- DeLong E. F., Franks D. G., Alldredge A. L. 1993. Phylogenetic diversity of aggregate-attached vs. free-living marine bacterial assemblages // *Limnol. Oceanogr.* Vol. 38. № 5. P. 924–934.
- Eiler A., Zaremba-Niedzwiedzka K., Martinez-Garcia M. et al. 2014. Productivity and salinity structuring of the microp plankton revealed by comparative freshwater metagenomics // *Environ. Microbiol.* Vol. 16. № 9. P. 2682–2698.
- Fandino L. B., Riemann L., Steward G. F. et al. 2001. Variations in bacterial community structure during a dinoflagellate bloom analyzed by DGGE and 16S rDNA sequencing // *Aquat. Microb. Ecol.* Vol. 23. № 2. P. 119–130.
- Fortunato C. S., Herfort L., Zuber P. et al. 2012. Spatial variability overwhelms seasonal patterns in bacterioplankton communities across a river to ocean gradient // *ISME J.* Vol. 6. P. 554–563.
- Ghiglione J. F., Mevel G., Pujo-Pay M. et al. 2007. Diel and seasonal variations in abundance, activity, and community structure of particle-attached and free-living bacteria in NW Mediterranean sea // *Microb. Ecol.* Vol. 54. P. 217–231.
- Ghiglione J. F., Conan P., Pujo-Pay M. 2009. Diversity of total and active free-living vs. particle-attached bacteria in the euphotic zone of the NW Mediterranean Sea // *FEMS Microbiol. Lett.* Vol. 299. № 1. P. 9–21.
- Giovannoni S. J., Britschgi T. B., Moyer C. L. et al. 1990. Genetic diversity in Sargasso Sea bacterioplankton // *Nature*. P. 345. P. 60–62.
- Grossart H. P., Czub G., Simon M. 2006. Algae-bacteria interactions and their effects on aggregation and organic matter flux in the sea // *Environ. Microbiol.* Vol. 8. № 6. P. 1074–1084.
- Guillemette F., McCallister S. L., del Giorgio P. A. 2016. Selective consumption and metabolic allocation of terrestrial and algal carbon determine allochthony in lake bacteria // *ISME J.* Vol. 10. P. 1373–1382.
- Hanson C. A., Fuhrman J. A., Horner-Devine M. C. et al. 2012. Beyond biogeographic patterns: Processes shaping the microbial landscape // *Nat. Rev. Microbiol.* Vol. 10. P. 497–506.
- Hollibaugh J. T., Wong P. S., Murrell M. C. 2000. Similarity of particle-associated and free-living bacterial communities in northern San Francisco Bay, California // *Aquat. Microb. Ecol.* Vol. 21. P. 103–114.
- Ibekwe A. M., Ma J., Murinda S. E. 2016. Bacterial community composition and structure in an Urban River impacted by different pollutant sources // *Science of the Total Environment*. P. 566–567, 1176–1185.
- Jannasch H. W., Jones G. E. 1959. Bacterial populations in sea water as determined by different methods of enumeration // *Limnol. Oceanogr.* Vol. 4. P. 128–139.
- Jones S. E., Cadkin T. A., Newton R. J. et al. 2012. Spatial and temporal scales of aquatic bacterial beta diversity // *Front. Microbiol.* Vol. 3. P. 318.
- Kellerman A. M., Dittmar T., Kothawala D. N. et al. 2014. Chemodiversity of dissolved organic matter in lakes driven by climate and hydrology // *Nat. Commun.* Vol. 5. P. 3804.
- Kolmakova O. V., Gladyshev M. I., Rozanov A. S. et al. 2014. Spatial biodiversity of bacteria along the largest Arctic river determined by next-generation sequencing FEMS // *Microbiol. Ecol.* Vol. 89. № 2. P. 442–450.
- Kjörboe T., Tang K., Grossart H. P., Ploug H. 2003. Dynamics of microbial communities on marine snow aggregates: colonization, growth, detachment, and grazing mortality of attached bacteria // *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 69. № 6. P. 3036–3047.
- Lawton J. H. 1994. What do species do in ecosystems? // *Oikos*. Vol. 71. P. 367–374.
- Lee S.-Y., Eom Y.-B. 2016. Analysis of microbial composition associated with freshwater and seawater // *Biomed. Sci. Lett.* Vol. 22. P. 150–159.

- Leibold M. A., Holyoak M., Moquet N. et al. 2004. The metacommunity concept: A framework for multi-scale community ecology // *Ecol. Lett.* Vol. 7. P. 601–613.
- Limolano M. V., Riddle B. R., Brown J. H. 2006. *Biogeography*. 3^d ed. Sunderland, MA: Sinauer.
- Lin Q. Y., Sun B., K. Q. Bai et al. 2018. Seasonal changes in community composition and diversity of bacterioplankton in an artificial lagoon in China // *PeerJ Preprints*. doi.org/10.7287/peerj.preprints.26935v1
- Logares R., Haverkamp T. H. A., Kumar S. et al. 2012. Environmental microbiology through the lens of high-throughput DNA sequencing: synopsis of current platforms and bioinformatics approaches // *J. Microbiol. Meth.* Vol. 91. P. 106–113.
46. Logue J. B., Stedmon C. A., Kellerman A. M. et al. 2016. Experimental insights into the importance of aquatic bacterial community composition to the degradation of dissolved organic matter // *ISME J.* Vol. 10. P. 533–545.
- Lundin D., Severin I., Logue J. B. et al. 2012. Which sequencing depth is sufficient to describe patterns in bacterial alpha- and beta-diversity? // *Env. Microbiol. Rep.* Vol. 4. P. 367–372.
- Madigan M. T., Martinko J. M., Stahl D. A., Clark D. 2011. *Brock: Biology of microorganisms*. 13th ed. New York: Pearson.
- Martiny A. C., Treseder K., Pusch G. 2013. Phylogenetic conservatism of functional traits in microorganisms // *ISME J.* Vol. 7. P. 830–838.
- Martiny J. B. H., Bohannan B. J. M., Brown J. H. et al. 2006. Microbial biogeography: Putting microorganisms on the map // *Nat. Rev. Microbiol.* Vol. 4. P. 102–112.
- Mittelbach G. G. 2012. Biodiversity and ecosystem functioning. In *Community ecology*. P. 41–62. Sunderland, MA: Sinauer.
- Mo Y., Zhang W., Yang J. et al. 2018. Biogeographic patterns of abundant and rare bacterioplankton in three subtropical bays resulting from selective and neutral processes // *ISME J.* Vol. 12(9). P. 2198–2210.
- Moeseneder M. M., Winter C., Herndl G. J. 2001. Horizontal and vertical complexity of attached and free-living bacteria of the eastern Mediterranean Sea, determined by 16S rDNA and 16S rRNA fingerprints // *Limnol. Oceanogr.* Vol. 46. P. 95–107.
- Newton R. J., Jones S. E., Eiler A. et al. 2011. A guide to the natural history of freshwater lake bacteria // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* Vol. 75. P. 14–49.
- Ortega-Retuerta E., Joux F., Jeffrey W. H., Ghiglione J. F. 2013. Spatial variability of particle-attached and free-living bacterial diversity in surface waters from the Mackenzie River to the Beaufort Sea (Canadian Arctic) // *Biogeosciences*. Vol. 10. P. 2747–2759.
- Paver S. F., Hayek K. R., Gano K. A. et al. 2013. Interactions between specific phytoplankton and bacteria affect lake bacterial community succession // *Environ. Microbiol.* Vol. 15. P. 2489–2504.
- Pedros-Alíó C. 2006. Marine microbial diversity: Can it be determined? // *Trends Microbiol.* Vol. 14. P. 257–263.
- Pérez M. T., Sommaruga R. 2006. Differential effect of algal- and soil-derived dissolved organic matter on alpine lake bacterial community composition and activity // *Limnol. Oceanogr.* Vol. 51. P. 2527–2537.
- Qu J., Jia C., Liu Q. et al. 2018. Dynamics of bacterial community diversity and structure in the terminal reservoir of the South-to-North water diversion project in China // *Water*. Vol. 10. P. 709.
- Read D. S., Gweon H. S., Bowes M. J. et al. 2015. Catchment-scale biogeography of riverine bacterioplankton. *ISME J.* Vol. 9. P. 516–526.
- Rieck A., Herlemann D. P. R., Jürgens K., Grossart H.-P. 2015. Particle-associated differ from free-living bacteria in surface waters of the Baltic Sea // *Front. Microbiol.* Vol. 6. P. 1297.
- Riemann L., Winding A. 2001. Community dynamics of free-living and particle-associated bacterial assemblages during a freshwater phytoplankton bloom // *Microb. Ecol.* Vol. 42. № 3. P. 274–285.
- Rink B., Seeberger S., Martens T. et al. 2007. Effects of phytoplankton bloom in coastal ecosystem on the composition of bacterial communities // *Aquatic Microbial Ecology*. Vol. 48. № 1. P. 47–60.
- Rink B., Martens T., Fischer D. et al. 2008. Short-term dynamics of bacterial communities in a tidally affected coastal ecosystem // *FEMS Microbiol. Ecol.* Vol. 66. № 2. P. 306–319.
- Robarts R. D., Carr G. M. 2009. Bacteria, bacterioplankton. In *Encyclopedia of inland waters*. Edited by G. E. Likens, Amsterdam: Elsevier. P. 193–200.
- Ruiz-González C., Niño-García J. P., del Giorgio P. A. 2015. Terrestrial origin of bacterial communities in complex boreal freshwater networks // *Ecol. Lett.* Vol. 18. P. 1198–1206.
- Salcher M. M. 2014. Same same but different: Ecological niche partitioning of planktonic freshwater prokaryotes // *J. Limnol.* Vol. 73. P. 74–87.
- Schweitzer B., Huber I., Amann R. et al. 2001. Alpha- and beta-proteobacteria control the consumption and release of amino acids on lake snow aggregates // *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 67. P. 632–645.
- Shan D., Wei G., Li M. et al. 2015. Distribution and diversity of bacterioplankton communities in subtropical seawater around Xiamen Island, China // *Microbiol. Res.* Vol. 175. P. 16–23.
- Stevens M. P., Stevens J. M., Jeng R. L. et al. 2005. Identification of a bacterial factor required for actin-based motility of *Burkholderia pseudomallei* // *Mol. Microbiol.* Vol. 56. № 1. P. 40–53.
- Tamames J., Abellán J. J., Pignatelli M. et al. 2010. Environmental distribution of prokaryotic taxa // *BMC Microbiol.* Vol. 10. P. 85.
- Ward D. M., Weller R., Bateson M. M. 1990. 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community // *Nature*. Vol. 345. P. 63–65.

- Weiss P., Schweitzer B., Amann R., Simon M. 1996. Identification in situ and dynamics of bacteria on limnetic organic aggregates (lake snow) // *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 62. № 6. P. 1998–2005.
- Woese C. R. 1987. Bacterial evolution // *Microbiol. Rev.* Vol. 51. № 2. P. 221–271.
- Yu S., He R., Song A., et al. 2019. Spatial and temporal dynamics of bacterioplankton community composition in a subtropical dammed karst river of southwestern China // *Microbiology open*. Vol. 8. № 9. e00849.
- Zwart G., Crump B., Kamst-van Agterveld M. et al. 2002. Typical freshwater bacteria: an analysis of available 16S rRNA gene sequences from plankton of lakes and rivers // *Aquat. Microb. Ecol.* Vol. 28. P. 141–155.

ФИТОЭПИЛИТОН ПОГРАНИЧНЫХ ЗОН ТЕЛЕЦКОГО ОЗЕРА**Г. В. Винокурова***Институт водных и экологических проблем СО РАН
656038 г. Барнаул, ул. Молодежная, 1, kimg@iwer.ru*

Приведены результаты исследования микроводорослей каменистого субстрата (фитоэпилимона) литорали Телецкого озера за период 1991–2007 гг. Рассмотрены особенности пространственно-временной организации сообществ микроводорослей, существующих на разделе “каменистый субстрат – вода”, “суша – вода” и “приток – озеро”. Показано, что микроводоросли экотонов адаптированы к напряженности, нестабильности абиотических факторов.

Ключевые слова: фитоэпилимонтон, водно-наземные экотонны, Телецкое озеро, Горный Алтай.

DOI: 10.24411/0320-3557-2019-10028

ВВЕДЕНИЕ

Ценотическая, трофическая и индикаторная значимость водорослей, развивающихся на твердых субстратах общепризнана [Water Quality..., 2004, Water framework directive..., 2014]. Роль фитоперифитона как продуцента первичного органического вещества и компонента процесса самоочищения особенно велика в горных водотоках и озерах с незначительным развитием фитопланктона и высшей водной растительности. Здесь водоросли каменистых субстратов (фитоэпилимонтон) – основная по обилию и таксономическому разнообразию растительная группировка. Зона раздела между водой и твердыми субстратами различного происхождения и местоположения в водоеме (перифиталь: [Протасов, 1982 (Protasov, 1982)]) по количественным и структурным показателям в ряде случаев представляет собой экотон [Комулайнен, 2001 (Komulaunen, 2001)].

Водно-наземные экотонны, распространенность и протяженность которых в природе велика [Role ..., 1989], являются динамичными структурами, характеризуются высокой интенсивностью биологических процессов, играют существенную роль в поддержании биологического разнообразия и оказывают влияние на всю озерно-речную систему [Харченко, 1991 (Harchenko, 1991); Дикарева, 1994 (Dikareva, 1994); Богатов, 1995 (Bogatov, 1995); Залетаев

и др., 1997 (Zaletaev et al., 1997); Дамрин, Боженов, 2011 (Damrin, Bozhenov, 2011); Кузьмичев и др., 2013 (Kuz'michev et al., 2013); Шляхтин и др., 2014 (Shlyahtin et al., 2014); Давыдова, 2015 (Davidova, 2015); Иванова, 2017 (Ivanova, 2017); Decamps et al., 2004; Komulaunen, 2002].

Фитоэпилимонтон береговой линии горных водоемов представляет собой сообщество водно-наземного экотона, обитающий в нестабильных условиях колебания уровня воды и волноприбойной деятельности. К экотонам относятся и участки литорали озер в местах впадения притоков, где речной режим меняется на озерный [Макаревич, 2016 (Makarevich, 2016)] и происходит пересечение экологических ниш видов [Семенченко и др., 2018 (Semenchenko et al., 2018)]. С притоками в прибрежье озер выносятся биогенные вещества и речные организмы.

Телецкое озеро является превосходным объектом для изучения пространственно-временной организации экотонных сообществ микроскопических водорослей, размер клеток которых варьирует от 2 до 300 мкм.

Цель работы – исследование структуры и функционирования сообществ водорослей экотонов Телецкого озера на разделах “каменистый субстрат – вода”, “вода – суша” и “приток – озеро”.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования фитоэпилимонта Телецкого озера и 16 его притоков (рис. 1 а–в) проводили в марте–октябре 1991–2007 гг. Пробы отбирали с глубины 0.3 м в притоках, 0.5 м в литорали озера, а для оценки распределения водорослей по глубине (в июле 1998 г.) еще и с глубины 1.5 м. Сбор и обработка данных выполнены стандартными методами [Руководство ..., 1992 (Rukovodstvo ..., 1992)].

Для оценки влияния притоков материал собран в периоды весеннего половодья (май 2002 и 2004 гг.) и летне-осенней межени (июль 2002 г., август 2004 г., октябрь 2001 г.). Пробы собирали в притоке, в озере и в зоне смешения их вод, которую определяли визуально по характеру поверхностного течения. Поскольку котловина озера имеет уклон с юго-востока на северо-запад, стоковые течения являются

основными для озера [Селегей, Селегей, 1978 (Selegej, Selegej, 1978)], и при впадении притока происходит отклонение его потока в этом направлении (рис. 1 в).

Численность (N) и биомассу (B) эпилимнотона определяли счетно-объемным методом [Левадная, 1986 (Levadnaya, 1986)]. Идентификацию водорослей проводили с использованием световой ($\times 600$ и $\times 1500$) и электронной (Hitachi S3400N, $\times 3400$) микроскопии согласно отечественным и зарубежным определителям. В тексте использовали номенклатуру, принятую в системе AlgaeBase [Guiry, Guiry, 2018]. Частоту встречаемости вида оценивали как отношение числа проб, в которых он присутствовал, к общему числу проб; частоту доминирования вида – как отношение числа проб, в которых данный вид доминировал к общему числу проб. В доминирующий комплекс включены виды с численностью и биомассой $\geq 10\%$ общей [Корнева, 2015 (Корнева, 2015)]. Сравнение альгофлор проведено методом попарных мер включения [Андреев, 1980 (Andreev, 1980)], статистический анализ данных – с использованием программы Microsoft Excel.

Первичную продукцию эпилимнотона и деструкцию органического вещества определяли в июле, сентябре 2002 г., июле 2003 г., августе 2004 г. кислородным скляночным методом. Склянки объемом 130 мл экспонировали в водоеме на глубине 0.5 м в течение 3 часов [Руководство..., 1992

(Руководство..., 1992); McConnell, Sigler, 1959; Nozaki, 2001]. Для пересчета единиц кислорода в единицы углероды использовали коэффициент 0.31 [Винберг, 1960 (Vinberg, 1960)].

Всего собрано более 300 проб эпилимнотона, поставлено 112 экспериментов для определения его продукционных характеристик.

Тектоническое горное Телецкое озеро (площадь 227 км², длина 78.6 км, максимальная ширина 5.2 м, максимальная глубина 323 м) относится к глубоководным, проточным, имеет вытянутую руслообразную форму. Протяженность береговой линии озера 193 км. Прозрачность воды достигает 15 м. Для озера характерно частое изменение уровня воды, в литорали происходит постоянный волноприбойный процесс [Селегей, Селегей, 1978 (Selegej, Selegej, 1978); Кириллов, 2001 (Kirillov, 2001); Selegei et.al., 2001]. Прямолинейность берегов, образованных крупнообломочным материалом и крутыми, местами отвесными скалами, нарушается лишь в местах впадения притоков, конусы выноса которых сложены валунами, галечником, песком. В озеро впадает более 70 типично горных водотоков. Характер подводного рельефа до глубины 10–12 м мало отличается от наземного и сформирован либо каменными россыпями, либо уходящими под воду скалами.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В фитоэпилимнотоне Телецкого озера выявлено 446 видов водорослей (538 таксонов рангом ниже роды) из 156 родов, 79 семейств, 34 порядков, 18 классов, 9 отделов. Наиболее разнообразно представлены отделы Bacillariophyta (42.0% общего видового состава), Cyanobacteria (30.0%), Chlorophyta (19.5%); семейства Oscillatoriaceae (9.9%), Naviculaceae (8.1%), Cymbellaceae, Nitzschiaceae (по 6.7%), Fragilariaceae (6.5%); роды *Nitzschia* (6.5%), *Navicula* (5.6%), *Cymbella* (5.4%), *Oscillatoria* (4.5%), *Synedra* (3.4%). Одно-трехвидовые семейства составляют 48.1% всего количества семейств, одно-трехвидовые роды – 76.9% всего количества родов. Видовое разнообразие Cyanobacteria в целом превышает разнообразие Chlorophyta в 1.5 раза, а в отдельных сообществах (в 75% наблюдений) – в 1.5–14 раз.

Из общего списка 70.7% видов встречаются в 10–20% проб, т.е. эпизодически. Высо-

кой частотой встречаемости характеризуются 12 видов диатомовых водорослей *Achnanthes minutissimum* (Kütz.) Czarn. (100%), *Encyonema ventricosum* (Ag.) Grun. (86%), *Ctenophora pulchella* (Ralfs ex Kütz.) D.M. Williams & Round и *Ulnaria ulna* (Nitz.) Comp. (по 72%), *Cymbella cistula* (Ehr.) Kirchn. (68%), *Gomphonema olivaceum* (Horn.) Bréb. (66%), *Navicula radiosa* Kütz. (62%), *Hannaea arcus* (Ehr.) R.M. Patrick и *Cymbella helvetica* Kütz. (по 60%), *Asterionella formosa* Hass. (58%), *Fragilaria acus* (Kütz.) Lange-Bert. и *Odontidium hyemale* (Roth) Kütz. (по 50%), а также *Ulothrix zonata* (F. Weber & Mohr) Kütz. из зеленых водорослей. Этот вид может образовывать видимые зеленые обрастания вдоль береговой линии озера. Среди видов с высокой частотой встречаемости не отмечено представителей Cyanobacteria.

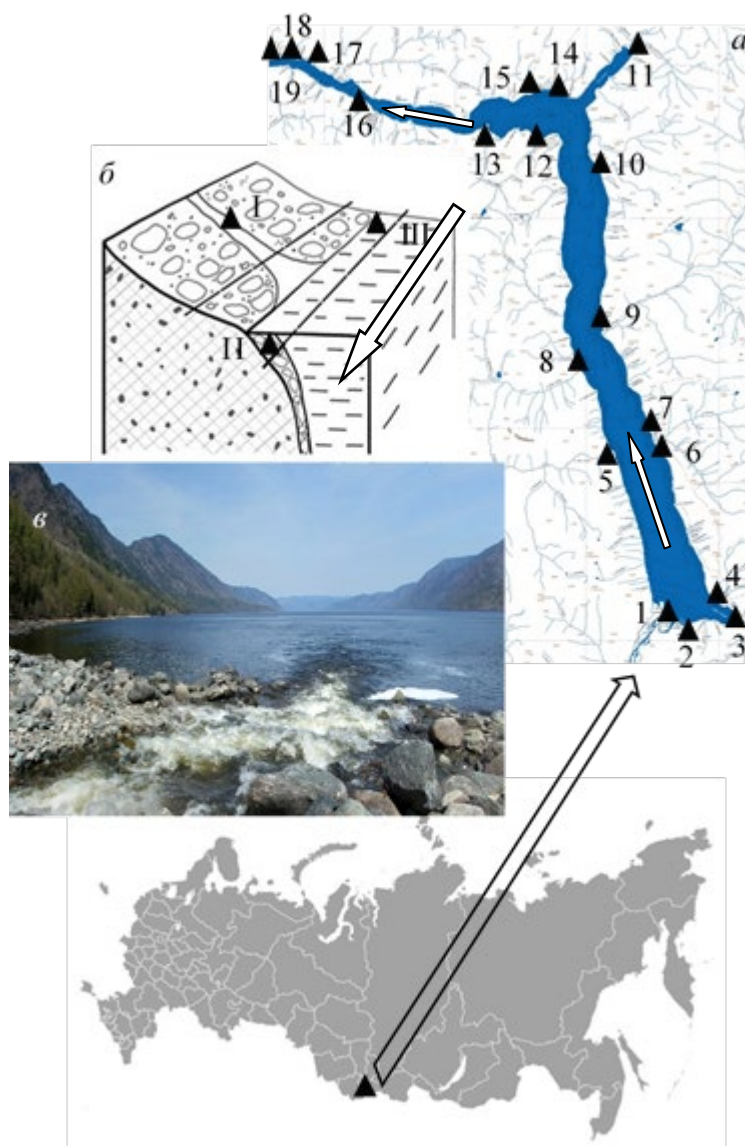


Рис. 1. Карта-схема пунктов отбора проб эпилимниона в Телецком озере. *а* – устья притоков (1 – Чулышман, 2 – Муза, 3 – Кыга, 4 – Чири, 5 – Большие Чили, 6 – Баскон, 7 – Челюш, 8 – Малые Чили, 9 – Кокши, 10 – Корбу, 11 – Камгинский залив, 12 – Ыдып, 13 – Колдор, 14 – Ок-Порок, 15 – Чеченек, 16 – Самыш, 17 – Тевенек, 18 – п. Артыбаш, 19 – исток Бии); *б* – участок озера в месте впадения притока: сплошная линия – урез воды, прерывистые линии – урез воды при повышении или понижении уровня воды в озере, I – русло реки, II – зона смешения речных и озерных вод, III – озеро вне зоны смешения с речными водами, *в* – фотография участка озера в месте впадения притока (из архива Лаборатории водной экологии ИВЭП СО РАН). Стрелки показывают основное направление стокового течения.

Fig. 1. The sample point map-scheme of Lake Teletskoye. *a* – the inflow entries (1 – Chulyshman, 2 – Muza, 3 – Kyga, 4 – Chiri, 5 – Bol'shie Chili, 6 – Baskon, 7 – Chelyush, 8 – Malye Chili, 9 – Kokshi, 10 – Korbu, 11 – Kamginskij Bay, 12 – Ydyb, 13 – Koldor, 14 – Ok-Porok, 15 – Chechenek, 16 – Samysh, 17 – Tevenek, 18 – the Artybash village, 19 – Biya springhead); *б* – lake locality at the inflow entry: solid line – water edge at the sampling time, depth of sampling on the lake are 0.5 m and 1.5 m below the edge, broken lines – the water edge at the level increasing or decreasing, I – riverbed, II – river and lake water mixing zone, III – lake outside the mixing zone; *в* – the locality “in-flow-lake” (photo of the Laboratory for Aquatic Ecology archive, IWEP SB RAS). Arrows on the lake show the main direction of the stock flow.

В отдельных случаях в состав доминирующего комплекса входят *Microcystis pulvere* (H.C.Wood) Forti, *Woronichinia compacta* (Lemm.) Kom. & Hind., *Gloeocapsa violacea* Kütz., *Gloeocapsopsis magma* (Bréb.) Kom. & Anagn. ex Kom., *Chondrocystis dermochroa*

(Näg.) Kom. & Anagn., *Chamaesiphon polonicus* (Rost.) Hansg., *Amorphonostoc punctiforme* (Kütz.) Elenk., *Tapinothrix simplex* (Woronichin) Bohunická & J.R.Johansen, *Symplocastrum penicillatum* (Gomont) Anagn., *Leptolyngbya valde-riana* (Gomont) Anagn. & Kom. Водоросли ос-

тальных отделов представлены незначительным числом видов и не играют существенной структурообразующей роли в эпилимнотоне озера.

При анализе межгодовой динамики не удалось выявить закономерных изменений структуры сообществ в целом и доминантного комплекса в частности. В течение вегетационного сезона в эпилимнотоне доминировали, как правило, одни и те же виды (табл. 1). На конкретных участках в течение всего периода исследований доминирующий комплекс, как правило, состоял из 1–3 видов. За весь период исследования отмечено 28 видов, доминирующих по численности и 47 – по биомассе. В первой группе высокой частотой доминирования характеризовались *Achnanthes minutissimum* (40.6%), *Ctenophora pulchella* (32.8%), *Encyonema ventricosum* (25.0%), во второй группе – *Ulothrix zonata* (19.7%), *Cymbella cistula* (18.2%), *Didymosphenia geminata* (Lyng.) Mart.Schmidt in A.Schmidt (16.1%), *Ctenophora pulchella* и *Ulnaria ulna* (по 15.2%), *Hannaea arcus* (13.6%), *Encyonema ventricosum* (10.6%).

Во все сезоны выявлено значительное колебание количественных характеристик эпилимнотона. Средние величины отражают повышение численности водорослей летом и повышение биомассы в период осенней межени (табл. 2). Существенное варьирование численности и биомассы отмечено и в разные годы (табл. 3).

На границе раздела “вода – суша” разных участков озера наибольшим сходством состава характеризовались диатомовые водоросли (рис. 2), наибольшими различиями – зеленые водоросли, а также цианобактерии. Численность и биомасса эпилимнотона варьировали в широких пределах, составляя 0.03–6.82 млрд кл./м² и 0.31–8.55 г/м² соответственно.

Число видов, численность и биомасса увеличивались с глубиной (табл. 4). При этом на глубине 0.5 м отмечено меньше видов из родов *Oscillatoria*, *Lyngbya*, *Phormidium*, но больше видов из родов *Microcystis*, *Gloeocapsa* (цианобактерии), *Scenedesmus*, *Crucigenia* (зеленые водоросли). Нитчатка *Ulothrix zonata* на глубине 0.5 м представлена прорастающими нитями и зиготами, биомасса которых может существенно превышать биомассу нитей. Так, у п. Артыбаш (ст. 18) эти величины соответственно составили 0.15 и 0.01 г/м².

С глубиной менялся размерный состав водорослей. Средний объем клеток *Achnanthes minutissimum* на глубине 1.5 м составил 517 мкм³, на глубине 0.5 м – 120 мкм³, *Ctenophora pulchella* – 1365 и 1096 мкм³ соответственно. Выявлена статистически достоверная отрицательная корреляция между средним объемом клеток доминирующих видов диатомовых и их численностью ($r = -0.86, p \leq 0.05$).

Таблица 1. Виды-доминанты по численности в фитозепилитоне Телецкого озера, май–октябрь 1991–2007 гг.

Table 1. Algal species dominating in phytoplankton by number, Lake Teletskoye, May–October 1991–2007.

Вид Species	Частота доминирования,% Frequency of dominance,%	Период наблюдения Observation period
<i>Achnanthes minutissimum</i>	40.6	V 2002, 2004; VII 1998, 2002, 2003; VIII 1991, 2004; X 1991, 2001
<i>Ctenophora pulchella</i>	32.8	V 2002, VI 1998, VII 1998, 2002, 2003; X 1991
<i>Encyonema ventricosum</i>	25.0	V 2002; VI 1998, VII 1998, 2002, 2003; VIII 1991, 2001, 2004, 2007; X 1991
<i>Gomphonema olivaceum</i>	7.8	V 2002, 2004; X 2001
<i>Hannaea arcus</i>	6.3	V 2004; X 2001
<i>Chamaesiphon polonicus</i>	12.5	V 2002; VII 1998, 2002, 2003
<i>Gloeocapsopsis magma</i>	7.8	V, VII 2002
<i>Microcystis pulverea</i>	4.7	VI, VII 1998; X 1991

Таблица 2. Многолетняя сезонная динамика количественных параметров фитопилитона Телецкого озера, 1991–2004 гг. (над чертой – пределы, под чертой – среднее со стандартной ошибкой).

Table 2. The long-term seasonal dynamics of the quantitative parameters of the Teletskoye Lake phytoplankton, 1991–2004 (above the line – limits, below the line – average with standard error).

Показатель Parameter	Май May	Июнь–Август June–August	Сентябрь–Октябрь September–October
Численность, млрд кл./м ² Number, bln cells/m ²	<u><0.01–0.75</u> 0.14±0.07	<u><0.01–24.2</u> 2.43±0.64	<u><0.01–2.80</u> 0.44±0.22
Биомасса, г/м ² Biomass, g/m ²	<u>0.03–0.85</u> 0.12±0.07	<u><0.01–424</u> 17.9±10.0	<u><0.01–295</u> 33.4±24.0

Таблица 3. Межгодовая динамика количественных параметров фитопилитона Телецкого озера в июле–августе (над чертой – пределы, под чертой – среднее со стандартной ошибкой).

Table 3. The interannual dynamics of the quantitative parameters of the Lake Teletskoye phytoplankton in July–August (above the line – limits, below the line – average with standard error).

Показатель Parameter	1998 г.	2002 г.	2003 г.	2004 г.
Численность, млрд кл./м ² Number, bln cells/m ²	<u>0.03–6.82</u> 1.91±0.60	<u><0.01–5.90</u> 1.65±0.54	<u>0.30–24.2</u> 6.48±3.93	<u>0.18–8.64</u> 2.45±2.06
Биомасса, г/м ² Biomass, g/m ²	<u>0.31–8.55</u> 5.25±3.20	<u>0.20–424</u> 45.5±35.1	<u>0.03–23.5</u> 10.5±3.24	<u>0.85–20.9</u> 6.67±4.78

Таблица 4. Структура фитопилитона разных участков Телецкого озера на глубине 0.5 м (над чертой) и 1.5 м (под чертой) в июле 1998 г.

Table 4. The phytoplankton structure at the different localities of Lake Teletskoye in July 1998 (above the line - at a depth of 0.5 m, below the line - at a depth of 1.5 m)

Показатель Parameter	Отдел Phylum	Чеченек Chechenek	Камгинский залив Kamginskij Bay	Кокши Kokshi	Б. Чили B. Chili	М. Чили M. Chili	
Число видов Species number	Bacillariophyta	<u>22</u> 57	<u>26</u> 50	<u>14</u> 21	<u>14</u> 26	<u>14</u> 17	
	Cyanobacteria	<u>17</u> 19	<u>11</u> 19	<u>6</u> 17	<u>6</u> 3	<u>22</u> 3	
	Chlorophyta	<u>6</u> 4	<u>3</u> 6	<u>5</u> 3	<u>0</u> 4	<u>3</u> 2	
	Прочие Other phylums	<u>3</u> 1	<u>0</u> 1	-	-	-	
	Общее Total	<u>48</u> 81	<u>40</u> 76	<u>25</u> 41	<u>20</u> 33	<u>39</u> 22	
	Численность, млрд кл./м ² Number, bln cells/m ²	Общая Total	<u>0.75</u> 2.0	<u>0.23</u> 2.62	<u>0.03</u> 1.10	<u>0.09</u> 6.82	<u>0.31</u> 5.0
	Биомасса, г/м ² Biomass, g/m ²	Общая Total	<u>1.10</u> 6.32	<u>0.17</u> 5.14	<u>0.11</u> 6.94	<u>0.12</u> 73.00	<u>0.36</u> 14.4

Прочерк – отсутствие видов.

Таблица 5. Структура фитопилитона в притоках и их устьевых участках (n – число видов, N – численность, млрд кл./м², B – биомасса, г/м²)

Table 5. The phytoplankton structure in the inflow and at the lake localities adjacent to the inflow entry (n – species number, N – number, bln cells/m², B – biomass, g/m²)

Участок Locality	Дата наблю- дения Date of ob-	Показатель Parameter	Озеро Lake	Приток Inflow	Зона смешения речных и озер- ных вод
---------------------	-------------------------------------	-------------------------	---------------	------------------	--

	servation				River and lake water mixing zone
М. Чили M. Chili	24.05.2002	<i>n</i> <i>N</i> <i>B</i>	26 0.20 0.09	24 29.4 1.99	27 0.35 0.03
М. Чили M. Chili	10.08.2004	<i>n</i> <i>N</i> <i>B</i>	41 0.53 0.85	35 0.09 0.30	45 0.18 20.9
Самыш Samysh	10.07.2002	<i>n</i> <i>N</i> <i>B</i>	2 <0.01 <0.01	28 2.03 1.94	50 2.86 2.20
Тевенек Tevenek	22.05.2002	<i>n</i> <i>N</i> <i>B</i>	4 0.02 0.03	— — —	22 0.85 0.75
Ок-Порок Ok-Porok	12.07.2002	<i>n</i> <i>N</i> <i>B</i>	17 3.76 0.75	29 3.00 1.62	29 62.2 5.86
Корбу Korbu	12.07.2002	<i>n</i> <i>N</i> <i>B</i>	26 0.54 1.42	24 0.41 4.49	28 0.53 1.17
Кокши Kokshi	24.05.2002	<i>n</i> <i>N</i> <i>B</i>	25 0.14 0.16	22 53.7 0.48	16 0.50 0.03
Кокши Kokshi	9.07.2002	<i>n</i> <i>N</i> <i>B</i>	19 1.23 4.42	31 0.04 0.06	23 4.32 425
Кокши Kokshi	29.5.2004	<i>n</i> <i>N</i> <i>B</i>	23 0.01 0.03	5 0.01 0.02	29 0.02 0.06
Кокши Kokshi	16.08.2004	<i>n</i> <i>N</i> <i>B</i>	38 8.63 3.53	34 0.61 0.28	56 0.46 1.38
Челюш Chelyush	7.10.2001	<i>n</i> <i>N</i> <i>B</i>	7 0.35 2.72	43 2.27 4.23	15 0.34 1.64
Челюш Chelyush	26.05.2002	<i>n</i> <i>N</i> <i>B</i>	19 0.02 0.01	17 <0.01 0.01	20 <0.01 0.01

Примечание: “—” данные отсутствуют.

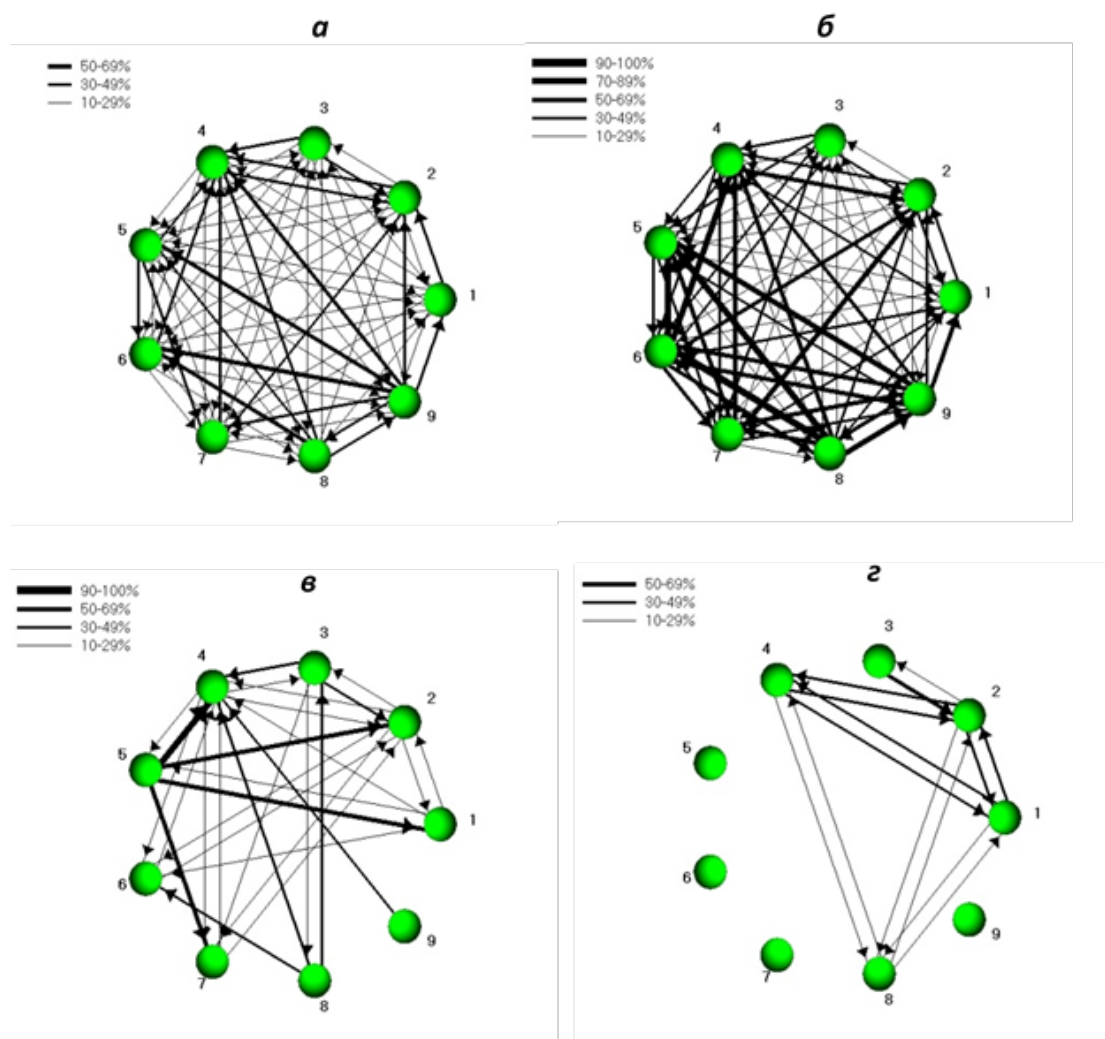


Рис. 2. Характеристика сходства таксономического состава фитоэпилитона разных участков Телецкого озера в июле 1998 г. с помощью попарных мер включения (по [Андреев, 1980 (Andreev, 1980)]), *а* – все отделы, *б* – Bacillariophyta, *в* – Cyanobacteria, *г* – Chlorophyta; 1–9 – номера притоков (см. рис. 1); цифры (%), соответствующие разной толщине ребер графов – порог значимости; отсутствие стрелок на графах означает отсутствие общих видов при уровне значимости 10%.

Fig. 2. Characteristic of the phytoepilithon taxonomic composition similarity from the different locations of Lake Teletskoye in July 1998 by pairwise inclusion measures (by [Andreev, 1980]), *a* – overall algal list, *б* – Bacillariophyta, *в* – Cyanobacteria, *г* – Chlorophyta; 1–9 – inflow numbers (see Fig. 1); numbers (%), corresponding to different thicknesses of the graph edges – threshold of significance; the arrows absence on the graphs means the common species absence at the 10% significance level.

В устьевых участках притоков не выявлено определенной закономерности в изменении показателей эпилитона. Число видов, численность и биомасса водорослей в устьевых зонах одних притоков увеличивались по сравнению с таковыми в самих водотоках и/или в озере выше притока, в других случаях снижались или же оставались неизменными (табл. 5). Увеличение перечисленных показателей, свидетельствующее о наличии характерного для экотонных краевого эффекта, отмечено в устьевой зоне различных по водности водотоков: крупного (р. Кокши, июль 2002 г., май 2004 г.), среднего (р. Самыш, июль 2002 г.) и малых (р. Тевенек, май 2002 г., р. Ок-Порок, июль

2002 г.). Изменение структурных характеристик эпилитона может носить разнонаправленный характер: одни показатели в зоне смешения вод увеличиваются, другие уменьшаются (р. Малые Чили, май 2002 г., июль 2004 г., р. Кокши, май 2005 г.). В целом, увеличение числа видов в зоне смешения наблюдалось в 66.7% случаев, численности и биомассы – в 50% случаев. Факт отсутствия структурных изменений альгоценозов, характерных для краевого эффекта или даже противоречащих этому, требует более детальных исследований.

Таксономический состав фитоэпилитона в озерных водах и в зонах их смешения с речными водами характеризуется высокой степе-

нию сходства (50–89%), свидетельствующей как о наличии одних и тех же видов, так и появлении 11–50% новых.

Валовая первичная продукция эпилимнтона (A) варьировала в диапазоне 0.3–139, 4.9–168 и 4.1–81 мг $O_2/(м^2 \cdot ч)$ в июле–сентябре 2002 г., июле 2003 г. и августе 2004 г., соответственно. В 82.5% измерений это составляет 0.1–5.6 г $C/(м^2 \cdot сут)$. Среднее за весь период исследования величина равна 29.3 ± 4.8 мг $O_2/(м^2 \cdot ч)$. Деструкция органического вещества (R) изменялась от 0.1 до 227 мг $O_2/(м^2 \cdot ч)$ при среднем

значении 48.4 ± 5.0 мг $O_2/(м^2 \cdot ч)$. Чистая первичная продукция в 62.2% измерений была отрицательной. Баланс органического вещества в толще обрастаний характеризовался отрицательными величинами, отражая преобладание гетеротрофных процессов над автотрофными. Коэффициент $A/R < 1$ в 68.9% случаев, его среднее значение составило 0.7 ± 0.1 . Максимальный $A/R = 4.4$, отмеченный в зоне смешения вод озера и р. Самыш (сентябрь 2002 г.), отражает высокий потенциал фотосинтетической активности водорослей.

ОБСУЖДЕНИЕ

В литорали и устьевых участках притоков Телецкого озера водоросли обрастаний развиваются на разделе двух сред (каменистый субстрат – вода, вода – суша, приток – озеро). В течение всего периода открытой воды эти зоны характеризуются нестабильностью гидродинамических условий, связанной с колебаниями уровня, ветроволновым воздействием, образованием сейшей и выпадением осадков, которые неравномерно распределяются по долине озера. Эти явления носят как регулярный (сезонный и суточный), так и нерегулярный, мало прогнозируемый характер [Селегей, Селегей, 1978 (Selegej, Selegej, 1978)]. При колебаниях уровня меняется положение уреза воды, и водоросли прекращают вегетировать на осушенном субстрате выше уреза, но заселяют затопленный субстрат ниже уреза. Ветроволновое воздействие проявляется как давление водной массы на обрастания при накате волн и смыв водорослей при откате. При откате волн образуется придонное течение, скорость которого в 5-мм слое воды над поверхностью субстрата составляет 0.1 м/с [Lorke et al., 2006; Hofman, 2008].

Водоросли эпилимнтона приспособлены к нестабильной среде. Сообщества сформированы, главным образом, широко распространенными, способными к существованию в разнообразных экологических условиях видами, и/или видами устойчивыми к гидродинамическому воздействию.

После смыва водорослей волнами вновь начинается заселение каменистого субстрата. Интенсивное деление клеток приводит к уменьшению их размера. На глубине 0.5 м размер клеток и колоний значительно меньше, чем на глубине 1.5 м, где волновая нагрузка слабее. Уменьшение размера клеток диатомовых водорослей и цианобактерий в период их активной вегетации отмечено и в других водоемах [Burkholder, Wetzel, 1989].

При подъеме уровня происходит прорастание водорослей и цианобактерий, находящихся в стадии покоя на камнях вне воды. Цианобактерии физиологически адаптированы к существованию в нестабильной, в том числе амфибиотической среде [Гусев, 1968 (Gusev, 1968)] и, по сравнению с зелеными водорослями, в обрастаниях представлены более разнообразно, чем в планктоне. В планктонных альгоценозах водоемов Западной Сибири [Сафонова, 1984 (Safonova, 1984)] и Телецкого озера в частности [Митрофанова, 2000 (Mitrofanova, 2000)] зеленые водоросли занимают второе место по видовому разнообразию после диатомовых и насчитывают в ~1.8 раза больше видов, чем Cyanobacteria.

Скорость формирования альгоценозов экотон в условиях Телецкого озера составляет около 23 суток, что существенно выше, чем в более стабильных местообитаниях – в равнинных мезотрофных водоемах и каналах (40–60 суток) [Калиниченко, 1991 (Kalinichenko, 1991); Рычкова, 1989 (Rychkova, 1989); Макаревич, 2003 (Makarevich, 2003)].

Значительное колебание структурных параметров фитоэпилимнтона вне зависимости от сезона года связано с частым изменением уровня воды и ветроволновой активностью. Гетерогенность функциональных показателей сообщества береговой линии озера обусловлена еще и неоднородностью абиотических условий, изменениями количественного развития водорослей, различным соотношением в перифитоне автотрофных и гетеротрофных компонентов.

Биомасса фитоэпилимнтона обычно невысока из-за постоянного смыва водорослей волнами, но при уменьшении гидродинамической нагрузки достигает $0.5 \text{ кг}/м^2$. Высокие скорости сукцессии, метаболизма и фотосинтеза делают сообщества микроводорослей динамичными и продуктивными. Валовая первичная продукция достигает $5.6 \text{ г } C/(м^2 \cdot сут)$ и, соглас-

но оценкам трофического статуса водных объектов по фитоперифитону [Сиротский, 1998 (Sirotskij, 1998)], литораль Телецкого озера относится к мезотрофному, а на некоторых участках – гиперэвтрофному типу. При этом по гидрофизическим, гидрохимическим и биотическим показателям толщи воды озеро характеризуется как олиготрофное. Высокая первичная продукция фитоэпилитона литорали отмечена и в других олиготрофных озерах (Тингвалаватн, Малави, Тахо, Крейтер, Гурон, Таупо) [Jonsson, 1992; Kahlert et al., 2002; DeNicola et al., 2004; O'Reilly, 2006]. Полученные результаты подтверждают сделанное автором ранее предположение о высокой продуктивности фитоэпилитона как особенности структурно-функциональной организации сообщества микроводорослей на границе твердого субстрата и воды [Ким, 2011 (Kim, 2011)].

Продуктивность фитоэпилитона, в отличие от фитопланктона, не лимитирована биогенными элементами. Одной из причин считается “внутренний” метаболизм в толще перифитонных матов [Ким, 2011 (Kim, 2011); Hayes, 2002]. Кроме того, в водно-наземном экотоне Телецкого озера происходит резкое уменьшение кинетической энергии ветра и волн, а также кинетической энергии горных водотоков при их впадении в озеро. Это приводит к значительному привнесению в водоем органических соединений [Хахинов и др., 2007 (Nahinov et al., 2007)].

В литорали Телецкого, как и в других горных озерах и горных водотоках бассейна Верхней Оби, не было отмечено уменьшения биомассы фитоэпилитона при увеличении биомассы водных беспозвоночных [Ким, 2015 (Kim, 2015)]. По-видимому, биотический фактор (выедание) в данном случае менее значим для развития водорослей обрастаний, чем гидродинамический.

С нестабильностью абиотических условий в период открытой воды, вероятно, связано отсутствие четко выраженной сезонной и межгодовой динамики структуры фитоэпилитона. Сходство этих условий на разных участках озера обуславливает частичное сходство

таксономического состава альгоценозов в целом и доминирующих комплексов в частности.

Структура эпилитона водно-наземных экотонів озера асимметрична. Основную долю составляют одно-трехвидовые семейства и роды; из общего списка только у 2.7% видов отмечена высокая частота встречаемости, у 0.7% видов – высокая частота доминирования по численности, у 1.6% – по биомассе. В большинстве случаев доминирующий комплекс состоит из 1–3 видов, лидирующих по численности (92.2% проб) и/или по биомассе (87.5% проб).

На протяжении длительного (>100 лет) периода наблюдений в Телецком озере сохраняются особенности его гидрологического режима (колебание уровня, ветроволновая активность) [Селегей, Селегей, 1978 (Selegej, Selegej, 1978); Selegei et al., 2001], а также элементов гидрохимического режима [Долматова, 2008 (Dolmatova, 2008)]. Единичные данные по фитоэпилитону озера, полученные в 1902 г. [Скворцов, 1930 (Skvortsov, 1930)] и 1928–1931 гг. [Воронихин, 1940 (Voronihin, 1940); Порецкий, Шешукова, 1953 (Poretskiy, Sheshukova, 1953)], демонстрируют сходство общего состава и доминирующих комплексов водорослей с современными. В 1928–1931 гг. в доминирующем комплексе фитоэпилитона вблизи уреза воды отмечено от 1 до 5 видов и 6–12 видов на глубине 2–30 м [Порецкий, Шешукова, 1953 (Poretskiy, Sheshukova, 1953)].

Анализ литературных данных [Ким, 2015 (Kim, 2015)] позволяет рассматривать пространственный аспект распределения эпилитона. Сходство структуры сообществ микроводорослей при отсутствии сезонных и межгодовых различий отмечено в водотоках и в литорали озер водосборных бассейнов различных ландшафтов Голарктики и других биогеографических областей. Для всех этих биотопов характерна гидродинамическая нагрузка в виде волноприбойной деятельности или высокой (более 0.1 м/с) скорости течения, нестабильность абиотических условий, низкая (до 500 мг/л) общая минерализация воды, температура ниже 20°C.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В эпилитоне пограничных зон Телецкого озера (каменистый субстрат – вода, вода – суша, приток – озеро, которые по количественным характеристикам сообществ характеризуются как экотоны, выявлено 446 видов водорослей из 9 отделов. Наиболее разнообразно представлены отделы Bacillariophyta (42.0% общего видового состава), Cyanobacteria

(30.0%), Chlorophyta (19.5%). Одно-трехвидовые семейства составляют 48.1% всего количества семейств, одно-трехвидовые роды – 76.9% всего количества родов. Высокой частотой встречаемости характеризуются 12 видов диатомовых и один вид зеленых водорослей. В доминирующий комплекс входят, как правило, от 1 до 3 видов.

Значительное колебание численности ($<0.01\text{--}24.20$ млрд кл./м²), биомассы ($<0.01\text{--}424.60$ г/м²), валовой первичной продукции ($0.1\text{--}5.6$ г С/м²) эпилимнтона обусловлены частым изменением уровня воды и ветроволновой деятельностью – процессами с не вполне предсказуемым проявлением по регулярности, амплитуде и силе воздействия на экотонные сообщества. При снижении гидродинамической нагрузки на глубине 1.5 м отмечено увеличе-

ние числа видов, численности, биомассы по сравнению с нестабильной 0.5-метровой зоной. В устьевых участках ряда притоков наблюдается краевой эффект, проявляющийся в увеличении числа видов, численности, биомассы эпилимнтона. Благодаря высокому продукционному потенциалу микроводорослей каменистых субстратов литорали, эта зона характеризуется более высоким трофическим статусом по сравнению с пелагиалью озера.

Работа выполнена в рамках программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук по проектам: “Изучение гидрологических, гидрохимических и гидробиологических процессов в реках, озерах и водохранилищах с учетом взаимодействия с водосборными бассейнами” (Приоритетное направление 4.2.5. Состояние водных ресурсов и прогноз водообеспеченности страны (1996-1998 гг.)); “Анализ и моделирование гидрологических, гидрохимических и гидробиологических процессов в бассейнах рек и внутренних водоемов Сибири” (Приоритетное направление 5.2.5. Водные ресурсы (1999–2001 гг.)); “Изучить гидрологические, гидрохимические и гидробиологические процессы в бассейнах сибирских рек, озер и водохранилищ; их влияние на состояние водных ресурсов региона в современных условиях” (Приоритетное направление 5.2.5. Водные ресурсы (2002-2004 гг.)); Проекта 24.2.2 “Комплексные исследования водохранилищ, крупных озер и озерных провинций Сибири” в рамках Программы 24.2 “Процессы формирования гидросферы, водных ресурсов и лимнических систем Сибири”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Андреев В.Л. Классификационные построения в экологии и систематике. М.: Наука, 1980. 142 с.
- Богатов В.В. Комбинированная концепция функционирования речных экосистем // Вестник ДВО РАН. 1995. № 3. С. 51–60.
- Винберг Г.Г. Первичная продукция водоемов. Минск: Изд-во АН БССР, 1960. 329 с.
- Воронихин Н.Н. Микрофитобентос Телецкого озера и некоторых притоков // Споры растений. М.: Изд-во АН СССР, 1940. Вып. 4. С. 237–245.
- Гусев М.В. Биология синезеленых водорослей. М.: Изд-во МГУ, 1968. 101 с.
- Давыдова Н.С. Фитоценозы в экотонной системе «вода-суша» прудов Воронежской области // Вестник ВГУ, география, геоэкология. 2015. № 1. С. 66–69.
- Дамрин А.Г., Боженов С.Н. Особенности формирования экотонов (на примере Ириклинского водохранилища) // Вестник ОГУ. 2011. № 12 (131). С. 184–186.
- Дикарева Т. В. Динамика экосистем в долинах рек Теджен и Мургаб в связи с водохозяйственной деятельностью: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1994. 25 с.
- Долматова Л.А. Гидрохимический режим Телецкого озера // О состоянии и перспективах развития сети особо охраняемых природных территорий в Республике Алтай: Матер. междунар. науч. конф. Горно-Алтайск: ПАНИ, 2008. С. 72–80.
- Залетаев В.С., Новикова Н.М., Митина Н.Н. и др. Экотоны в биосфере. М.: ИВП РАН, 1997. 329 с.
- Иванова А.П. Почвенные водоросли и цианобактерии водно-наземных экотонов полуострова Камчатка. [Электрон. ресурс] / Режим доступа <http://studydoc.ru/doc/5093393/> (accessed: 12.04.2017)
- Калининченко Р.А. Первичная продукция фитоперифитона // Гидробиология водоемов-охладителей тепловых и атомных электростанций Украины. Киев: Наукова думка, 1991. С. 122–126.
- Ким Г.В. Некоторые вопросы функционирования фитозпилимнтона олиготрофных водоемов и горных водотоков (обзор) // Гидробиол. журн. 2011. Т. 47. № 1. С. 15–23.
- Ким Г.В. Фитозпилимнтон водоемов и водотоков горной и предгорной частей бассейна Верхней Оби: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 2015. 22 с.
- Кириллов В.В. Разнообразие водных экосистем бассейна Оби // Введение в экологическое моделирование. Барнаул: Азбука, 2001. С. 9–43.
- Комулайнен С.Ф. Структурно – функциональная организация речного фитоперифитона как экотонного сообщества // VIII съезда ВГБО: тез. докл. Калининград, 2001. Т.1. С. 182–183.
- Корнева Л. Г. Фитопланктон водохранилищ бассейна Волги. Кострома: Костромской печатный дом. 2015, 284 с.
- Кузьмичев А.И., Ершов И.Ю., Краснова А.Н., Джалова М.И. Литораль Терско-Кумской низменности Республики Дагестан – экотон в системе современного развивающегося знания // Черномор. бот. журн. 2013. № 9 (2). С. 180–190.
- Левадная Г.Д. Микрофитобентос реки Енисей. Новосибирск: Наука, 1986. 286 с.

- Макаревич А.А. Речной сток и русловые процессы. Минск: БГУ, 2016. – [Электрон. ресурс] / Режим доступа <https://helpiks.org/7-55477.html> (accessed: 29.04.2019)
- Макаревич Т.А. Первичная продукция перифитона как элемент биотического круговорота в озерных экосистемах // Перифитон континентальных вод: современное состояние изученности и перспективы дальнейших исследований: тез. докл. Междунар. симп. Тюмень, 2003. С. 92–93.
- Митрофанова Е.Ю. Фитопланктон Телецкого озера (Горный Алтай, Россия): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2000. 21 с.
- Порецкий В.С., Шешукова В.С. Диатомовые Телецкого озера и связанных с ним рек // Диатомовый сборник. Л.: Изд-во Ленингр. гос. ун-та, 1953. С. 107–172.
- Протасов А.А. Перифитон: терминология и основные определения // Гидробиол. журн. 1982. Т. XVIII. № 1. С. 9–13.
- Рычкова М.А. Роль динамики вод в формировании эпифитных водорослевых сообществ в озере // Гидробиол. журн. 1989. Т. 25. № 3. С. 8–10.
- Руководство по гидробиологическому мониторингу пресноводных экосистем. СПб.: Гидрометеиздат, 1992. 318 с.
- Сафонова Т.А. Флора водорослей, ее особенности и роль в биологической продукции водоемов Западной Сибири // Биологические ресурсы внутренних водоемов Сибири и Дальнего Востока. М.: Наука, 1984. С. 108–117.
- Селегей В.В., Селегей Т.С. Гидрометеорологический режим озер и водохранилищ СССР. Телецкое озеро. Л.: Гидрометеиздат, 1978. 141 с.
- Семенченко В. П., Липинская Т. П., Мороз М. Д., Сысова Е. А., Майсак Н. Н. Влияние притоков на состояние литоральных сообществ оз. Нарочь (Республика Беларусь) // Биология внутр. вод. 2018. № 4. С. 3–8.
- Сиротский С.Е. К вопросу о трофической классификации водоемов и водотоков на основании величин первичной продукции и концентрации хлорофилла "а" // Биогеохимические и гидроэкологические исследования на Дальнем Востоке. Владивосток: Дальнаука, 1998. С. 77–83.
- Скворцов Б.В. Материалы по флоре водорослей азиатской части СССР. 1. О фитопланктоне оз. Телецкого // Журн. Русск. ботан. о-ва. 1930. Т. 15. Вып. 1–2. С. 91–92.
- Харченко Т.А. Концепция экотонов в гидробиологии // Гидробиол. журн. 1991. Т. 27. № 4. С. 3–9.
- Хахинов В.В., Намсараев Б.Б., Абидуева Е.Ю., Данилова Э.В. Гидрохимия экстремальных водных систем с основами гидробиологии. Улан-Удэ: Изд-во Бурятского ун-та, 2007. 148 с.
- Шляхтин Г. В., Беляченко А. В., Мосолова Е. Ю., Табачишин В. Г. Биологическая структура и динамика водно-наземных экотонов верхней зоны Волгоградского водохранилища // Поволжский эколог. журн. 2014. № 1. С. 74–81.
- Burkholder J.M., Wetzel R.G. Epiphytic microalgae on natural substrata in a hardwater lake: seasonal dynamics of community structure, biomass and ATP content // Arch. Hydrobiol. Suppl. 1989. № 83. P. 1–56.
- Decamps H., Pinay G., Naiman R., Petts G., McClain M., Hillbricht-Ilkowska A., Hanley T., Holmes R., Quinn J., Gilbert J., Planty Tabacchi A., Schiemer F., Tabacchi E., Zalewski M. Riparian zones: Where Biogeochemistry meets biodiversity in management practice // Pol. J. Ecol. 2004. Vol. 52. № 1. P. 3–18.
- DeNicola D.M., de Eyto E., Wemaere A., Irvine K. 2004. Using epilithic algal communities to assess trophic status in Irish lakes // J. Phycol. Vol. 40. P. 481–495.
- Guiry M. D., Guiry G. M. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. 2018. <http://www.algaebase.org>; searched on [Electronic resource]. (Дата обращения 30.10.2018).
- Hayes H.J. Recent advances on the role of periphyton in regulating biogeochemical processes // SOS 6448 Biogeochemistry of Wetland. Distans Education Section: 5128, 2002. 24 p.
- Hofmann H. Characteristics and Implications of Surface Gravity Waves in the Littoral Zone of a Large Lake (Lake Constance). Gottingen: Cuvillier Verlag, 2008. 127 p.
- Jonsson G. 1992. Photosynthesis and production of epilithic algal communities in Thingvallavatn // Ecology of oligotrophic, subarctic Thingvallavatn. Odense: OICOS. P. 222–240.
- Kahlert M., Hasselrot A., Hillebrant H., Pettersson K. 2002. Spatial and temporal variation in the biomass and nutrient status of epilithic algae in Lake Erken, Sweden // Freshwater Biology. Vol. 47. P. 1191–1215.
- Komulainen S. Periphyton in lake-river systems – an ecotone within an ecotone // Verh. Internat. Verein. Limnol. 2002. Vol. 28. P. 1824–1826.
- Lorke A., Large A., Peeters F., Bauerle E. High-frequency internal waves in the littoral zone of a large lake // Limnol. Oceanogr. 2006. Vol. 51. № 4. P. 1935–1939.
- McConnell W., Sigler W. Chlorophyll and productivity in a mountain river // Limnol. Oceanogr. 1959. Vol. 4. № 3. P. 335–351.
- Nozaki K. Abrupt change in primary productivity in a littoral zone of Lake Biwa with the development of a filamentous green-algal community // Freshwater Biology. 2001. № 46. P. 587–602.
- O'Reilly C.M. 2006. Seasonal dynamics of periphyton in large tropical lake // Hydrobiologia. Vol. 553. P. 293–301.
- Role of land/inland water ecotones in landscape management and restoration. Paris: Imprimerie des Presses Universitaires de France, Vendôme, 1989. 94 p.
- Selegei V., Dehandschutter B., Klerks J., Vysotsky E., Perepelova T. Physical and geological environment of Lake Tletskeye // Tervuren (Belgium): Royal Museum for Central Africa, 2001. Vol. 105. 310 p.

Water framework directive intercalibration technic report: Technical reports of European Commission, Joint Research Centre, Institute for Environment and Sustainability. Ispra, 2014. P. 1. 135 p.

Water Quality and biological assessment of selected segments in the Illinois river basin and Kings river basin, Arkansas: Final report Ecological engineering group University of Arkansas. Dallas, 2004. Vol. 1. 430 p.

REFERENCES

- Andreev V.L. 1980. Klassifikacionnie postroeniya v ehkologii i sistematike. M.: Nauka. 142 s. [In Russian]
- Bogatov V.V. 1995. Kombinirovannaya koncepciya funkcionirovaniya rechnyh ehkosistem // Vestnik DVO RAN. № 3. S. 51–60. [In Russian]
- Vinberg G.G. 1960. Pervichnaya produkciya vodoemov. Minsk: Izd-vo AN BSSR. 329 s. [In Russian]
- Voronihin N.N. 1940. Mikrofitobentos Teleckogo ozera i nekotoryh pritokov // Sporovye rasteniya. M.: Izd-vo AN SSSR. Vyp. 4. S. 237–245. [In Russian]
- Gusev M.V. 1968. Biologiya sinezelenyh vodoroslej. M.: Izd-vo MGU. 101 s. [In Russian]
- Davydova N.S. 2015. Fitocenozy v ehkotonnoj sisteme «voda-susha» prudov Voronezhskoj oblasti // Vestnik VGU, geografiya, geoehkologiya. № 1. S. 66–69. [In Russian]
- Damrin A.G., Bozhenov S.N. 2011. Osobennosti formirovaniya ehkotonov (na primere Iriklienskogo vodohranilishcha) // Vestnik OGU. № 12 (131). S. 184–186. [In Russian]
- Dikareva T.V. 1994. Dinamika ehkosistem v dolinah rek Tedzhen i Murgab v svyazi s vodohozyajstvennoj deyatel'nost'yu: Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. M. 25 s. [In Russian]
- Dolmatova L.A. 2008. Gidrohimijskij rezhim Teleckogo ozera // O sostoyanii i perspektivah razvitiya seti osobo ohranyaemyh prirodnyh territorij v Respublike Altaj: Mater. mezhdunar. nauch. konf. Gorno-Altajsk: PANI. S. 72–80. [In Russian]
- Zaletaev V.S., Novikova N.M., Mitina N.N. et al. 1997. Ehkotonny v biosfere. M.: IVP RAN. 329 s. [In Russian]
- Ivanova A.P. 2017. Pochvennye vodorosli i cianobakterii vodno-nazemnyh ehkotonov poluostrova Kamchatka. – [Elektron. resurs] / Rezhim dostupa <http://studydoc.ru/doc/5093393/> (accessed: 12.04.2017)
- Kalinichenko R.A. 1991. Pervichnaya produkciya fitoperifitona // Gidrobiologiya vodoemov-ohladiatelej teplykh i atomnyh elektrostancij Ukrainy. Kiev: Naukova dumka, S. 122–126. [In Russian]
- Kim G.V. 2011. Some Problems of the Functioning of Phytoplankton in Oligotrophic Water Bodies and Mountain Water Courses (Review) // Hydrob. J., 2011. Vol. 47, I. 3.10. P. 14–20.
- Kim G.V. 2015. Fitoehpiliton vodoemov i vodotokov gornoj i predgornoj chastej bassejna Verhnej Obi: Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. Novosibirsk. 22 s. [In Russian]
- Kirillov V.V. 2001. Raznoobrazie vodnyh ehkosistem bassejna Obi // Vvedenie v ehkologicheskoe modelirovanie. Barnaul: Azbuka. S. 9–43. [In Russian]
- Komulajnen S.F. 2001. Strukturno – funkcional'naya organizaciya rechnogo fitoperifitona kak e'kotonnogo soobshhestva // VIII s'ezda VGBO: tez. dokl. Kaliningrad. T.1. S. 182–183. [In Russian]
- Korneva L. G. 2015. Fitoplankton vodohranilishch bassejna Volgi. Kostroma: Kostromskoj pechatnyj dom. 284 s. [In Russian]
- Kuz'michev A.I., Ershov I.YU., Krasnova A.N., Dzhalova M.I. 2013. Litoral' Tersko-Kumskoj nizmennosti Respubliki Dagestan – ehkoton v sisteme sovremennogo razvivayushchegosya znaniya // Chernomor. bot. zhurn. № 9 (2). S. 180–190. [In Russian]
- Levadnaya G.D. 1986. Mikrofitobentos reki Enisej. Novosibirsk: Nauka. 286 s. [In Russian]
- Makarevich A.A. 2016. Rechnoj stok i ruslovyje processy. Minsk: BGU. [Elektron. resurs] / Rezhim dostupa <https://helpiks.org/7-55477.html> (accessed: 29.04.2019)
- Makarevich T.A. 2003. Pervichnaya produkciya perifitona kak element bioticheskogo krugovorota v ozernyh ekosistemah // Perifiton kontinental'nyh vod: sovremennoe sostoyanie izuchennosti i perspektivy dal'nejshih issledovanij: tez. dokl. Mezhdunar. simp. Tyumen'. S. 92–93.
- Mitrofanova E.YU. 2000. Fitoplankton Teleckogo ozera (Gornij Altaj, Rossiya): Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. M. 21 s. [In Russian]
- Poreckij V.S., SHeshukova V.S. 1953. Diatomovye Teleckogo ozera i svyazannyh s nim rek // Diatomovyj sbornik. L.: Izd-vo Leningr. gos. un-ta, S. 107–172. [In Russian]
- Protasov A.A. 1982. Perifiton: terminologiya i osnovny'e opredeleniya // Gidrobiol. zhurn. T. XVIII. № 1. S. 9–13. [In Russian]
- Rychkova M.A. 1989. Rol' dinamiki vod v formirovanii epifitnyh vodoroslevykh soobshchestv v ozere // Gidrobiol. zhurn. T. 25. № 3. S. 8–10. [In Russian]
- Rukovodstvo po gidrobiologicheskomu monitoringu presnovodnyh ehkosistem. 1992. SPb.: Gidrometeoizdat. 318 s. [In Russian]
- Safonova T.A. 1984. Flora vodoroslej, ee osobennosti i rol' v biologicheskoy produkcii vodoemov Zapadnoj Sibiri // Biologicheskie resursy vnutrennih vodoemov Sibiri i Dal'nego Vostoka. M.: Nauka. S. 108–117. [In Russian]
- Selegej V.V., Selegej T.S. 1978. Gidrometeorologicheskij rezhim ozer i vodohranilishch SSSR. Teleckoe ozero. L.: Gidrometeoizdat. 141 s. [In Russian]
- Semenchenko V. P., Lipinskaya T. P., Moroz M. D., Sysova E. A., Majsak N. N. 2018. Vliyanie pritokov na sostoyanie litoral'nyh soobshchestv oz. Naroch' (Respublika Belarus') // Biologiya vnutr. vod. № 4. S. 3–8. [In Russian]

- Sirotskij S.E. 1998. K voprosu o troficheskoj klassifikacii vodoemov i vodotokov na osnovanii velichin pervichnoj produkcii i koncentracii hlorofilla "a" // Biogeohimicheskie i gidroekologicheskie issledovaniya na Dal'nem Vostoke. Vladivostok: Dal'nauka. S. 77–83. [In Russian]
- Skvortcov B.V. 1930. Materialy po flore vodoroslej aziatskoj chasti SSSR. 1. O fitoplanktone oz. Teleckogo // Zhurn. Russk. botan. o-va. T. 15. Vyp. 1–2. S. 91–92. [In Russian]
- Harchenko T.A. 1991. Konceptiya ehkotonov v gidrobiologii // Hydrob. J. T. 27. № 4. S. 3–9. [In Russian]
- Hahinov V.V., Namsaraev B.B., Abidueva E.YU., Danilova Eh.V. 2007. Gidrohimiya ehkstremaal'nyh vodnyh sistem s osnovami gidrobiologii. Ulan-Udeh: Izd-vo Buryatskogo un-ta. 148 s. [In Russian]
- Shlyahtin G. V., Belyachenko A. V., Mosolova E. YU., Tabachishin V. G. 2014. Biologicheskaya struktura i dinamika vodno-nazemnyh ehkotonov verhnjej zony Volgogradskogo vodohranilishcha // Povolzhskij ehkolog. zhurn. № 1. S. 74–81. [In Russian]
- Burkholder J.M., Wetzel R.G. 1989. Epiphytic microalgae on natural substrata in a hardwater lake: seasonal dynamics of community structure, biomass and ATP content // Arch. Hydrobiol. Suppl. № 83. P. 1–56.
- Decamps H., Pinay G., Naiman R., Petts G., McClain M., Hillbricht-Ilkowska A., Hanley T., Holmes R., Quinn J., Gilbert J., Planty Tabacchi A., Schiemer F., Tabacchi E., Zalewski M. 2004. Riparian zones: Where Biogeochemistry meets biodiversity in management practice // Pol. J. Ecol. Vol. 52. № 1. P. 3–18.
- DeNicola D.M., de Eyto E., Wemaere A., Irvine K. 2004. Using epilithic algal communities to assess trophic status in Irish lakes // J. Phycol. Vol. 40. P. 481–495.
- Guiry M. D., Guiry G. M. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. 2018. <http://www.algaebase.org>; searched on [Electronic resource]. (Data obrashcheniya 30.10.2018).
- Hayes H.J. 2002. Recent advances on the role of periphyton in regulating biogeochemical processes // SOS 6448 Biogeochemistry of Wetland. Distans Education Section. 512824 p.
- Hofmann H. 2008. Characteristics and Implications of Surface Gravity Waves in the Littoral Zone of a Large Lake (Lake Constance). Gottingen: Cuvillier Verlag. 127 p.
- Jonsson G. 1992. Photosynthesis and production of epilithic algal communities in Thingvallavatn // Ecology of oligotrophic, subarctic Thingvallavatn. Odense: OICOS. P. 222–240.
- Kahlert M., Hasselrot A., Hillebrant H., Pettersson K. 2002. Spatial and temporal variation in the biomass and nutrient status of epilithic algae in Lake Erken, Sweden // Freshwater Biology. Vol. 47. P. 1191–1215.
- Komulainen S. 2002. Periphyton in lake-river systems – an ecotone within an ecotone // Verh. Internat. Verein. Limnol. Vol. 28. P. 1824–1826.
- Lorke A., Large A., Peeters F., Bauerle E. 2006. High-frequency internal waves in the littoral zone of a large lake // Limnol. Oceanogr. Vol. 51. № 4. P. 1935–1939.
- McConnell W., Sigler W. 1959. Chlorophyll and productivity in a mountain river // Limnol. Oceanogr. Vol. 4. № 3. P. 335–351.
- Nozaki K. 2001. Abrupt change in primary productivity in a littoral zone of Lake Biwa with the development of a filamentous green-algal community // Freshwater Biology. № 46. P. 587–602.
- O'Reilly C.M. 2006. Seasonal dynamics of periphyton in large tropical lake // Hydrobiologia. Vol. 553. P. 293–301.
- Role of land/inland water ecotones in landscape management and restoration. 1989. Paris: Imprimerie des Presses Universitaires de France, Vendôme. 94 p.
- Selegei V., Dehandschutter B., Klerks J., Vysotsky E., Perepelova T. 2001. Physical and geological environment of Lake Teletskoye // Tervuren (Belgium): Royal Museum for Central Africa. Vol. 105. 310 p.
- Water framework directive intercalibration technic report: Technical reports of European Commission, Joint Research Centre, Institute for Environment and Sustainability. Ispra, 2014. P. 1. 135 p.
- Water Quality and biological assessment of selected segments in the Illinois river basin and Kings river basin, Arkansas: Final report Ecological engineering group University of Arkansas. Dallas, 2004. Vol. 1. 430 p.

ALGAE OF LAKE TELETSKOYE ECOTONES

G. V. Vinokurova

*Institute for Water and Environmental Problems SB RAS
Molodezhnaya St., 1, 656038 Barnaul, Russia, kimg@iwep.ru*

The research results (1991–2007) of microalgae communities from rocky substrate in the littoral of Lake Teletskoye found at the depth up to 1.5 m are presented. The peculiarities of the spatio-temporal organization of microalgae communities existing simultaneously on “rocky substrate – water”, “land – water” and “inflow – lake” (in complex ecotone) are considered. It is shown that microalgae communities in Lake Teletskoye ecotones are adapted to the intensity, instability of the abiotic factors. The similarity of the phytoplankton structure in the present period with retrospective data (1902, 1928–1931) is noted. The differences between ecotonal communities formed by macrophytes and microalgae are discussed.

Keywords: microalgae, phytoplankton, Altai Mountains, aquatic-terrestrial ecotones, Lake Teletskoye

ПАМЯТИ НАШИХ КОЛЛЕГ

**К ЮБИЛЕЮ ЛАБОРАТОРИИ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ
ВОДНЫХ ОРГАНИЗМОВ**

А.М. Андреева

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, aam@ibiw.ru*

DOI: 10.24411/0320-3557-2019-10029



**Владимир Иванович Лукьяненко
1936-2011**

В 2019 году лаборатории экологической биохимии водных организмов (ЛЭБ) исполняется 40 лет. Ее создание неразрывно связана с жизнью и деятельностью доктора биологических наук, профессора Владимира Ивановича Лукьяненко. Владимир Иванович родился в г. Кисловодске в 1936 году; окончил школу с золотой медалью, далее – биолого-почвенный факультет МГУ с красным дипломом по специальности «физиология человека и животных». Научным руководителем его дипломной работы был ученик великого русского физиолога Ивана Петровича Павлова – Александр Осипович Долин. Дипломная работа Владимира Ивановича «К вопросу о возможности условно-рефлекторного воспроизведения иммунных реакций» определила его дальнейшие научные приоритеты в области иммунофизиологии. В 1962 году Владимир Иванович защитил кандидатскую диссертацию «Роль физиологических механизмов динамического стереотипа в изменении направленности иммунологических и аллергических реакций». Ее результаты подтверждали спорную в то время концепцию о наличии нервной регуляции клеточных и гуморальных факторов иммунитета. После защиты, исследования врожденного и приобретенного иммунитета были продолжены на низших позвоночных в возглавляемой им лаборатории экологической физиологии и биохимии в Астраханском

ЦНИИОРХ. Результаты этой работы были обобщены в монографии «Иммунобиология рыб», которая в 1970 г. была представлена на соискание ученой степени доктора биологических наук.

В 1979 г. на базе Института биологии внутренних вод в пос. Борок, В.И. Лукьяненко основал лабораторию экологической биохимии. В ее коллектив влились сотрудники астраханской лаборатории, а также выпускники и сотрудники Ленинградского, Московского, Ивановского и Ярославского университетов. Структура лаборатории включала три основных раздела – биохимию, генетику и иммунологию – и «веер» соответствующих направлений: экологической и эволюционной биохимии; биохимической и популяционной генетики; исследования гуморальных факторов неспецифической защиты и антигенной структуры белков. Приоритетными объектами были еще достаточно многочисленные в то время осетрообразные, а «мишенями» – клетки, ткани и белки водных организмов. Организованный Владимиром Ивановичем широкомасштабный сбор материала по осетрообразным европейской части и юго-востоку России, Сибири – позволил собрать уникальный материал по белкам этих (в настоящее время практически исчезнувших из природы) видов – белуг, севрюг, осетров, лопатоносов, веслоноса, стерляди и оценить масштабы их потерь за период 90-х годов, отмеченных резким ухудшением состояния основных водных артерий РФ. По этой причине в 90-е годы в ЛЭБ усилился сектор работ по исследованиям влияния техногенных факторов на показатели жизнедеятельности рыб.

Активное участие лаборатории в развитии физиолого-биохимических исследований водных организмов реализовалось также и в ее организационной деятельности. За период 1979–2002 гг. лаборатория выступила инициатором и организатором более двух десятков конференций, совещаний и круглых столов; ученики Владимира Ивановича, включая сотрудников лаборатории, защитили кандидатские и докторские диссертации; с их участием было опубликовано 12 монографий. За этот период была собрана уникальная коллекция электрофореграмм (протеомных карт) по белкам осетрообразных, работа с которой продолжается и сегодня.

В начале нового столетия «заданные» Владимиром Ивановичем направления развивались уже на основе двух подразделений – лаборатории экологической биохимии и Центра «Молекулярные технологии», в «ядро» которого также вошли его ученики. На базе Центра, исследования механизмов биохимических адаптаций получили новое воплощение в современном формате экологической и эволюционной протеомики. В 2013 году ЛЭБ и Центр объединились, и в практику объединенной лаборатории вошли современные технологии, а также традиции регулярных обучающих молекулярно-генетических школ, в том числе, Всероссийских и с участием зарубежных коллег. За период 2006–2019 гг. было проведено 9 школ и одна конференция. Результаты совместной деятельности объединенной лаборатории можно охарактеризовать ее вкладом в разработку фундаментальных проблем биологии – биохимической генетики полиплоидных видов рыб, стратегий организации белков/протеомов и механизмов капиллярного обмена у рыб. У костистых рыб обнаружен особый «без-альбуминовый» механизм стабилизации капиллярной фильтрации с участием липопротеинов высокой плотности; описаны различные эволюционные стратегии организации протеомов микросреды рыб; разработана эволюционная модель становления протеома плазмы рыб и другие. Результаты этих исследований представлены и обобщены в публикациях в отечественных и зарубежных журналах, пяти монографиях и других трудах и поддержаны грантами РФФИ. Успех развития этих направлений во многом определен грамотной организацией научно-исследовательского процесса и стратегией научных исследований, заложенных ее первым заведующим.

*Зав. лаб. экологической биохимии
д.б.н. Андреева А.М.*

**ПАМЯТИ ВЛАДИМИРА ВАСИЛЬЕВИЧА ЧЕРЕПЕННИКОВА –
НАСТАВНИКА, УЧИТЕЛЯ, ДРУГА, ЕДИНОМЫШЛЕННИКА, СОРАТНИКА**

Г. В. Шурганова

*Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского
603950, Россия, Нижегородская обл., Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23, к. 1*

DOI: 10.24411/0320-3557-2019-10030

Что может связать людей на долгие годы? Единомыслие. Единомышленники, несмотря на разницу в возрасте и различия в статусе и образовании, одинаково реагируют на многие события, убеждаются в общем понимании и восприятии происходящего вокруг. Во многом это касается и формирования взглядов на научные проблемы. В обсуждениях этих проблем, порой связанных с преодолением мучительных сомнений, рождается понимание, ясность и уверенность в правильности выбранного вектора исследований. И тогда единомышленники становятся ещё и соратниками. Рождается желание работать и передавать этот настрой своим ученикам. И если они, ученики, тоже оказываются единомышленниками и соратниками, в этом и заключается большая сила и счастье учителя.

терять единомышленников и соратников чрезвычайно трудно.

4 января 2019 г. перестало биться сердце нашего единомышленника, соратника, очень скромного, но очень талантливого, творческого и мудрого человека, который для многих стал учителем, многих вывел на нелегкий и интересный путь науки – Владимира Васильевича Черепенникова.

Владимир Васильевич – коренной нижегородец. Он родился 28 октября 1946 г. С золотой медалью окончил автозаводскую школу и поступил на радиофизический факультет Горьковского государственного университета им. Н.И. Лобачевского. С университетом была связана вся его жизнь. Во время обучения в университете он специализировался на кафедре бионики и статистической радиофизики, студенты которой на протяжении двух лет обучались параллельно на биологическом факультете. Именно это позволило ему заложить университетские основы знаний по некоторым направлениям биологической науки: зоологии, анатомии, гистологии, физиологии человека и животных и др. Эти знания оказались очень полезными при дальнейшей работе с биологическими объектами и помогали грамотно анализировать происходящие в живой природе процессы.



Владимир Васильевич Черепенников (28.10.1946 – 04.01.2019)

После окончания университета Владимир Васильевич остался работать на кафедре бионики и статистической радиофизики ГГУ под руководством талантливого ученого и исследователя Аскольда Николаевича Малахова. Параллельно с работой на кафедре Владимир Васильевич несколько лет работал в НИИ прикладной математики и кибернетики, участвовал в интереснейших экспедициях, проходивших на Дальнем Востоке, на Черном море и других уголках нашей Родины. Уникальным проектом было строительство подводного дома на Черном море, прототипа современного экодома.

Наряду с ведением занятий на радиофизическом факультете более двух десятилетий читал лекции и вел практические занятия по курсу «Математика» для студентов направления «Биофизика» биологического факультета ННГУ.

Более четверти века Владимир Васильевич был ученым секретарем диссертационного совета по специальности «Радиофизика». Многие и многие кандидаты и доктора наук-радиофизики благодарны ему за помощь и поддержку на нелегком этапе защиты диссертаций и оформлении документов, которые всегда были подготовлены идеально, совет все эти годы работал без нареканий.

Трудно переоценить роль Владимира Васильевича в становлении и укреплении школы гидробиологов на кафедре экологии ННГУ. Он знал все проблемы и трудности гидробиологов, начиная от сбора материала в полевых условиях (на водоемах и водотоках), до грамотной обработки и публикации материала. Часто сам, не раздумывая, предлагал свою помощь – на своей машине выезжал на водные объекты и участвовал в сборе гидробиологических проб.

Владимир Васильевич много сил и времени уделял грамотной обработке собранного материала. До сих пор предложенный им оригинальный подход и метод многомерного векторного анализа в приложении к гидробиологическому материалу успешно и широко используется гидробиологами нашего университета и России. Метод многомерного векторного анализа позволяет получить «геометрические образы», адекватные видовой структуре сообществ гидробионтов, на основе представления видовой структуры зоопланктона как многомерной динамической системы. Владимир Васильевич впервые предложил и реализовал алгоритм выделения зоопланктоценозов, установления компонентов их различий. Это позволило провести количественную идентификацию планктонных сообществ, выявить расположение и динамику занимаемых ими акваторий водохранилищ и границ, определить направления и скорости перестройки видовой структуры сообществ зоопланктона на разных этапах существования водохранилищ. Анализ расположения областей, изображающих видовую структуру планктонных сообществ в многомерном пространстве, показал их дискретный, компактный характер. Этот подход вносит существенный вклад в решение теоретической проблемы континуальности и дискретности видовой структуры биотических сообществ.

Владимир Васильевич привносил культуру в исследования, беспокоясь о том, что биологи часто некорректно используют статистические методы для динамических систем, тем самым искажая результаты. Обобщение многолетних результатов исследований, решение ряда фундаментальных и традиционных в экологии проблем на новом методическом уровне позволило Владимиру Васильевичу совместно с гидробиологами кафедры экологии опубликовать ряд методических публикаций, которые помогают не только гидробиологам в их научной работе, но и чрезвычайно ценны как методические пособия и используются в учебном процессе Института биологии и биомедицины ННГУ, используются в ряде дисциплин: «Учение о гидросфере», «Морские и пресноводные экосистемы», «Современные проблемы гидробиологии» и др. Опубликованные в двух выпусках учебного пособия «Экологический мониторинг» (часть VII, VIII) методические разработки широко востребованы гидробиологами России. Научные исследования опубликованы в ряде престижных журналов из перечня ВАК, входящих в международные базы данных и системы цитирования: Биология внутренних вод, Поволжский экологический журнал, Журнал Сибирского федерального университета, Вода: химия и экология, Известия Самарского научного центра РАН.

Большую помощь и реальную поддержку Владимир Васильевич оказывал соискателям-гидробиологам при подготовке диссертаций. Он был строгим, принципиальным и очень грамотным ученым, глубоко вникающим в тему научного исследования и способным вывести результаты исследований на новый уровень. Он привносил культуру исследований, и тем самым воспитывал будущих ученых.

Владимир Васильевич очень любил природу, Волгу, Пустыньские озера. Он мог приготовить идеальную уху, находил отдых в рыбалке, замечал и восторгался красотой природы.

Он очень любил своего сына – Валерия Черепенникова. Гордился им. Валерий закончил радиофизический факультет ННГУ и достиг больших успехов в своей профессиональной деятельности. Владимир Васильевич очень любил своих внуков.

Трудно осознать, что Владимира Васильевича уже нет с нами, но его дела, его увлеченность и неравнодушие, его вклад в формирование и становление коллектива гидробиологов, его неоценимая помощь и поддержка способствовали укреплению интереса к науке, формированию коллектива единомышленников и соратников.

Будем помнить, будем почитать, будем благодарить!

*Гидробиологи кафедры экологии Института биологии и биомедицины
ННГУ им. Н.И. Лобачевского:
д.б.н., профессор Г.В. Шурганова,
кандидаты биологических наук И.С. Макеев, И.А. Кудрин, М.Ю. Ильин,
аспиранты Д.Е. Гаврилко, Т.В. Золотарева, В.С. Жихарев.*

Избранные публикации Владимира Васильевича Черепенникова:

1. Шурганова Г.В., **Черепенников В.В.**, Артельный Е.В. Динамика пространственного распределения основных зоопланктоценозов Чебоксарского водохранилища // Поволжский экологический журнал. 2003. № 3. С. 297–304.
2. Шурганова Г.В., **Черепенников В.В.**, Артельный Е.В. Динамика численности дискриминантных видов основных зоопланктоценозов Чебоксарского водохранилища // Поволжский экологический журнал. 2004. №2. С. 200–209.
3. Шурганова Г.В., **Черепенников В.В.**, Мельникова Е.И., Артельный Е.В. Многолетняя динамика некоторых показателей трофической структуры зоопланктонных сообществ Чебоксарского водохранилища // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Серия Биология. Н. Новгород: ННГУ, 2004. Вып. 3 (5). С. 97–102.
4. **Черепенников В.В.**, Шурганова Г.В., Гелашвили Д.Б., Артельный Е.В. Исследование различий видовой структуры основных зоопланктоценозов Чебоксарского водохранилища методом многомерного анализа // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2004. Т. 6. № 2 (12). С. 328–333.
5. Шурганова Г.В., **Черепенников В.В.**, Крылов А.В., Артельный Е.В. Пространственное размещение и особенности зоопланктоценозов Горьковского водохранилища // Биологические ресурсы пресных вод: беспозвоночные. Рыбинск: Изд-во ОАО «Рыбинский дом печати», 2005. С. 384–396.
6. Шурганова Г.В., **Черепенников В.В.**, Мультифрактальный анализ видового разнообразия зоопланктоценозов водохранилищ Средней Волги (на примере Горьковского и Чебоксарского) // Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского. Серия Биология. Н. Новгород: ННГУ, 2005. Вып. 1 (9). С. 222–234.
7. Шурганова Г.В., **Черепенников В.В.**, Артельный Е.В. Динамика антропогенной сукцессии основных зоопланктоценозов Чебоксарского водохранилища // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Серия Биология. Н. Новгород: ННГУ, 2005. Вып. 2 (10). С. 107–114.
8. Шурганова Г.В., **Черепенников В.В.** Формирование и развитие зоопланктонных сообществ водохранилищ Средней Волги // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2006. Т. 8. № 1. С. 241–247.
9. Шурганова Г.В., **Черепенников В.В.** Динамика видовой структуры зоопланктоценозов двух волжских водохранилищ в процессе их формирования и развития // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. 2010. № 3. С. 267–277.
10. Шурганова Г.В., **Черепенников В.В.** Методы выделения и идентификации сообществ гидробионтов // Экологический мониторинг. Методы биологического и физико-химического мониторинга. Часть VII: Учебное пособие под ред. проф. Д.Б. Гелашвили. Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2011. С. 121–155.
11. Шурганова Г.В., **Черепенников В.В.**, Тарбеев М.Л., Маслова Г.О. Видовая структура зоопланктона р. Сеража Нижегородской области // Вестник ННГУ. 2012. № 3. С. 120–125.
12. Шурганова Г.В., Кудрин И.А., Ильин М.Ю., **Черепенников В.В.** Характеристика пространственной и видовой структуры зоопланктона и оценка качества вод рек Кудьма и Линда Нижегородской области // Вода: химия и экология. 2014. № 1 (66). С. 28–35.
13. Шурганова Г.В., **Черепенников В.В.**, Кудрин И.А., Ильин М.Ю. Характеристика современного состояния видовой структуры и пространственного размещения сообществ зоопланктона Чебоксарского водохранилища // Поволжский экологический журнал. 2014. № 3. С. 417–421.

14. Тарбеев М.Л., Шурганова Г.В., **Черепенников В.В.** Сезонные изменения пространственного размещения и видовой структуры зоопланктонных сообществ малой реки (на примере р. Линда Нижегородской области) // Вода: химия и экология. 2014. № 12. С. 48–56.
15. Шурганова Г.В., **Черепенников В.В.**, Кудрин И.А., Ильин М.Ю. Пространственное размещение сообществ зоопланктона пресноводных водоёмов и водотоков // Экологический мониторинг. Часть VIII. Современные проблемы мониторинга пресноводных экосистем: Учебное пособие / Под редакцией проф. Д.Б. Гелашвили, проф. Г.В. Шургановой. – Нижний Новгород: Изд-во Нижегородского Государственного университета, 2014. С. 335–345.
16. Якимов В.Н., Шурганова Г.В., **Черепенников В.В.**, Кудрин И.А., Ильин М.Ю. Методы сравнительной оценки результатов кластерного анализа структуры гидробиоценозов (на примере зоопланктона реки Линда Нижегородской области) // Биология внутренних вод. 2016. № 2. С. 94–103.

Научное издание

*А. М. Андреева, А. А. Солдатов, Д. В. Тихоненков, Р. А. Запруднова, А. А. Морозов, Е. В. Кузнецова, Д. В. Косолапов,
Г. В. Винокурова, Г. В. Шурганова*

Труды ИБВВ РАН, 2019, вып. 88(91)

Рекомендуемый вариант цитирования статей:
... // Труды ИБВВ РАН. 2019. Вып. 88(91). С. ...

Recommended option for citing articles:
... // Transactions of IBIW RAS. 2019. Is. 88(91). P. ...

Подписано в печать 20.12.2019. Формат 60×90 1/8.
Усл. печ. л. 10,25. Заказ № 19131. Тираж 150 экз.

Отпечатано с готового оригинал-макета в типографии ООО «Филигрань»
150049, г. Ярославль, ул. Свободы, 91, pechataet@bk.ru