

**АННОТАЦИЯ**  
**научно-технического отчета**  
**о выполнении этапа Государственного контракта**  
**№ П622 от \_\_\_\_\_ от 07 августа 2009 г.**

Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг., в рамках реализации мероприятия № 1.3.2 «Проведение научных исследований целевыми аспирантами»

по проекту: «Изучение возможности и особенностей применения универсальных молекулярно-биохимических стресс-маркеров для оценки неблагоприятных воздействий на экосистему оз. Байкал»

Разработка методов и технологий мониторинга и прогнозирования состояния атмосферы и гидросферы является одним из приоритетных направлений развития науки. Оценка состояния биосистем, основанная на использовании биохимических и молекулярно-биологических стресс-маркеров, является наиболее современным методом мониторинга, поскольку позволяет установить стрессовое воздействие на самых ранних стадиях.

Целью исследования являлось изучение особенностей функционирования белков теплового шока (БТШ) и антиоксидантных ферментов (ферментов антиоксидантной системы (АОС)) у байкальских амфипод при воздействии стрессовых факторов по сравнению с палеарктическими видами и оценка возможности их применения в качестве биомаркеров токсического воздействия у байкальских организмов.

Согласно задачам исследования в ходе выполнения работы был проведен **аналитический обзор** более 250 информационных источников по проблеме исследования. Основываясь на литературных данных, была выдвинута **гипотеза** о том, что байкальские эндемичные организмы обладают особенностями функционирования их стрессовых систем по сравнению с палеарктическими видами. Исходя из этого, применение стандартных методов мониторинговых исследований или биотестирования на байкальских эндемичных видах может привести к ошибочным выводам (Simberloff, 2000; Stachowicz et al., 2002)..

В качестве объекта данного исследования выбрана группа

пресноводных амфипод (Amphipoda, Crustacea). Для исследования были выбраны байкальские эндемичные литоральные виды: *Eulimnogammarus verrucosus* (Gerstf), *E. cyaneus* (Dyb.), *O. favus* (Dyb.). Европейско-сибирскую фауну представляли виды *Gammarus lacustris* Sars, *G. pulex* (Linnaeus), *G. tigrinus* (Sexton), типичные обитатели мелководных водоемов Палеарктики.

Проведен **сбор, анализ и обобщение** данных об основных особенностях участия белков теплового шока (БТШ) и ферментов антиоксидантной системы (АОС) в системе стресс-адаптации байкальских эндемиков и их отличия от общераспространенных Палеарктических видов. Оценена специфика реакции байкальских эндемичных видов.

Было выявлено, что интоксикация приводит к достоверному снижению активности пероксидазы и глутатион S-трансферазы (кроме *G. tigrinus*) у изученных видов амфипод, при этом не было найдено достоверных различий в специфике реакции антиоксидантных ферментов у палеарктических и байкальских видов амфипод. Время начала снижения активности ферментов напрямую зависело от токсикорезистентности видов: у менее устойчивых видов снижение активности происходило раньше, чем у более устойчивых. При этом не было найдено достоверных различий в специфике реакцией антиоксидантных ферментов при интоксикации у палеарктических и байкальских видов амфипод. Более раннее снижение активности пероксидазы и глутатион S-трансферазы у байкальских видов можно объяснить более высокой токсикорезистентностью выбранных палеарктических видов, а не метаболическими особенностями байкальских видов.

Было также показано, что у всех изученных видов происходило увеличение количества БТШ исследованных семейств при интоксикации хлоридом кадмия. При этом была обнаружена характерная зависимость «доза-эффект» у амфипод *E. cyaneus*: в пределах использованных концентраций хлорида кадмия наблюдали прямую зависимость между степенью увеличения БТШ у амфипод и концентрацией токсиканта.

У глубоководного вида *O. flavus* индуцированное накопление БТШ70 фиксировали, начиная с 3-х часов экспозиции. До этого времени количество БТШ у большей части исследованных рачков *O. flavus* оставалось ниже детектируемого порога. При этом стресс-индуцированный уровень БТШ70 у глубоководного вида не превышал конститутивный уровень БТШ70 у исследованных литоральных видов.

Результаты, полученные в ходе выполнения работ по проекту, легли в основу разрабатываемой адаптированной **методики** оценки стрессового ответа у байкальских эндемиков. Данная методика позволит проводить мониторинговые исследования экосистем оз. Байкал и Байкальского региона, включая как последствия антропогенного воздействия, так и глобальных климатических изменений. На основе полученных результатов, предложены рекомендации по применению биохимических и молекулярно-биологических методов (подходов) при проведении мониторинговых исследований и при оценке стрессовых состояний водных экосистем оз. Байкал и Байкальского региона, включая как последствия локальных антропогенных воздействий, так и глобальных климатических изменений. На основе полученных данных было сделано заключение о том, что ферменты АОС (каталаза и глутатион S-трансфераза) и БТШ можно успешно **рекомендовать** к использованию в качестве биомаркеров стрессового воздействия у байкальских организмов.

По результатам работы за период выполнения проекта было опубликовано 5 статей в журналах ВАК (в том числе международных), 2 работы было принято в печать в 2010 г., 3 тезисов всероссийских и международных конференций. Материалы, полученные в ходе выполнения работ по НИР, включены в учебный процесс биологического факультета ИГУ. Полученные экспериментальные данные включены в основу диссертационной работы руководителя проекта и одного из исполнителей проекта.

**Статьи в журналах и сборниках по материалам, полученным в ходе выполнения проекта:**

**1. Protopopova, M.V.,** V.V. Takhteev, Zh.M. Shatilina, V.V. Pavlichenko, D.V. Axenov-Gribanov, D.S. Bedulina, M.A. Timofeyev (2011). Small HSPs molecular weights as new indication to the hypothesis of segregated status of thermophilic relict *Gmelinoides fasciatus* among Baikal and Palearctic amphipods. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, V. 7 (2): 175- 182 (**принята в печать в 2010 г**).

**2. Shatilina, Z.M.,** H.W. Riss, M.V. **Protopopova, M.** Trippe, E.I. Meyer, V.V. Pavlichenko, D.S. Bedulina, D.V. Axenov-Gribanov, M.A. Timofeyev (2011). The role of the heat shock proteins (HSP70 and sHSP) for the thermotolerance of freshwater amphipods from contrasting habitats. *Journal of thermal biology*, V. 36, (2): 142 – 149 (**принята в печать в 2010 г**).

**3. Protopopova, M.V.,** D.V. Axenov-Gribanov (2009). The partial CDS sequences of mRNA for HSP70 gene of Baikalian endemic amphipods // *Materialien zum wissenschaftlichen Seminar der Stipendiaten der Programme “Michail Lomonosov”* - 2008/09: P. 191-194.

**4. Protopopova, M.V.,** N.S. Shahtanova (2010). Estimation of stress influence of synthetic humic substances (HS1500) to freshwater organisms in comparison with natural organic matter (NOM) using heat-shock proteins (HSP) as stress-markers //“*Materialien zum wissenschaftlichen Seminar der Stipendiaten der Programme “Michail LomonosovII” und “Immanuel Kant II”*” - 2009/2010: P. 274-276.

**5. Шатилина, Ж.М.,** М.В. Губанов, Е.С. Задереев, В.В. Павличенко, Д.В. Аксёнов-Грибанов, Е.А. Сапожникова, **М.В. Протопопова,** Д.С. Бедулина, М.А. Тимофеев (2010). Сравнительное исследование клеточных механизмов термоустойчивости у представителей популяций *Gammarus lacustris* Sars, населяющих солёное оз. Шира (респ. Хакассия) и пресный водоем Прибайкалья. *Доклады академии наук*. Т. 434 (6): 846-849.

**6. Шатилина, Ж.М.,** Т.П. Побежимова, О.И. Грабельных, Д.С. Бедулина, М.В. **Протопопова, В.В.** Павличенко, М.А. (2010). Тимофеев Белки теплового шока в механизмах стресс-адаптации у байкальских амфипод и палеарктического *Gammarus lacustris* Sars: I. Семейство БТШ70. *Сибирский экологический журнал*, 1: С. 57–67.

**7. Шатилина, Ж.М.,** Д.С. Бедулина, М.В. Протопопова, В.В. Павличенко, Т.П. Побежимова, О.И. Грабельных, М.А. Тимофеев (2010). Белки теплового шока в механизмах стресс-адаптации у байкальских амфипод и палеарктического *Gammarus lacustris* Sars: II. Семейство низкомолекулярные (малые) БТШ. *Сибирский экологический журнал*, 4: 623-632.

**Тезисы конференций по материалам, полученным в ходе выполнения проекта:**

1. **Протопопова М.В.**, Pavlichenko V.V., Axenov-Gribanov D.V., Shahtanova N.S., Timofeyev M.A.. Increase of lactate content in endemic Baikal amphipods by high temperature and cadmium chloride // Материалы Пятая байкальская Верещагинская конференция, международная научная школа для молодежи «Экология крупных водоемов и их бассейнов», 16 объединенный материал по проблемам изучения региональных осадений из атмосферы: тезисы докладов и стендовых сообщений (г. Иркутск, 4-9 октября 2010). – Иркутск: изд. ООО «Иркутская областная типография № 1». - 2010. – С. 44-45.

2. **Протопопова М.В.**, Лозовой Д.В., Павличенко В.В., Аксёнов-Грибанов Д.В., Сапожникова Е.А., Шатилина Ж.М., Бедулина Д.С., Тимофеев М.А. Влияние водорастворимых фракций нефти на содержание белков теплового шока у байкальских и палеарктических амфипод и гастропод// Устойчивость организмов к неблагоприятным факторам внешней среды: Материалы Всероссийской научной конференции, 24-28 августа 2009 г, С. 389-393.

3. Pavlichenko V.V., Luckenbach T., Axenov-Gribanov D.V., **Протопопова М.В.**, Timofeyev M.A. Identification of P-glycoprotein gene sequence of Palearctic amphipod species Gammarus lacustris Sars. // Материалы Пятой байкальской Верещагинской конференции, международной научная школа для молодежи «Экология крупных водоемов и их бассейнов», 16 объединенный материал по проблемам изучения региональных осадений из атмосферы: тезисы докладов и стендовых сообщений (г. Иркутск, 4-9 октября 2010). – Иркутск: изд. ООО «Иркутская областная типография № 1». - 2010. – С. 81-82

**Результаты работы были включены в следующие диссертационные работы:**

**Протопопова М.В.** Механизмы неспецифической резистентности у байкальских и палеарктических амфипод в условиях интоксикации хлоридом кадмия / Дисс. канд. биол. наук. – Красноярск. – 2011, 144 с. (представлена на рассмотрение в совет объединенного диссертационного совета ДМ 212.099.15 при Сибирском федеральном университете в 2010 г.) - *диссертация руководителя проекта.*

Бедулина Д.С. Влияние температурного фактора на клеточные и биохимические механизмы у байкальских и палеарктических амфипод /Дисс. канд. биол наук. - Борок. - 2009, 151 с. – *диссертация исполнителя проекта.*