

**За отчетный период (2006-2010 гг.) получены следующие наиболее важные результаты научных исследований.**

Исследованы кольцевые структуры, регулярно выявляемые на космических снимках MODIS (<http://geol.irk.ru>) на поверхности льда. Установлено, что кольцевые структуры проявляются перед разрушением льда в разных районах озера Байкал (рис. 1а, б). По данным 2009 г. в центральной части кольцевой структуры установлено повышение температуры воды более чем на 0,5° (рис. 2). Повышение температуры, а также заглубление термоклина в центральной части структуры обусловлено локальным подъемом глубинных вод и генерацией антициклонического вихря, приводящих к уменьшению толщины ледового покрова за счет увеличения скорости кольцевых течений. Как показали измерения, толщина льда минимальна в районе «темного кольца», на расстоянии 2 км от его центра. Несмотря, на повышенные температуры воды в центральной части кольцевой структуры толщина льда там близка к толщине за пределами кольцевой структуры. Это свидетельствует о том, что температура подледного слоя не является главным фактором определяющим уменьшение толщины льда. Этим фактором, приводящим к подъему глубинных вод, наиболее вероятно, является наличие «газового факела» под кольцевой структурой.

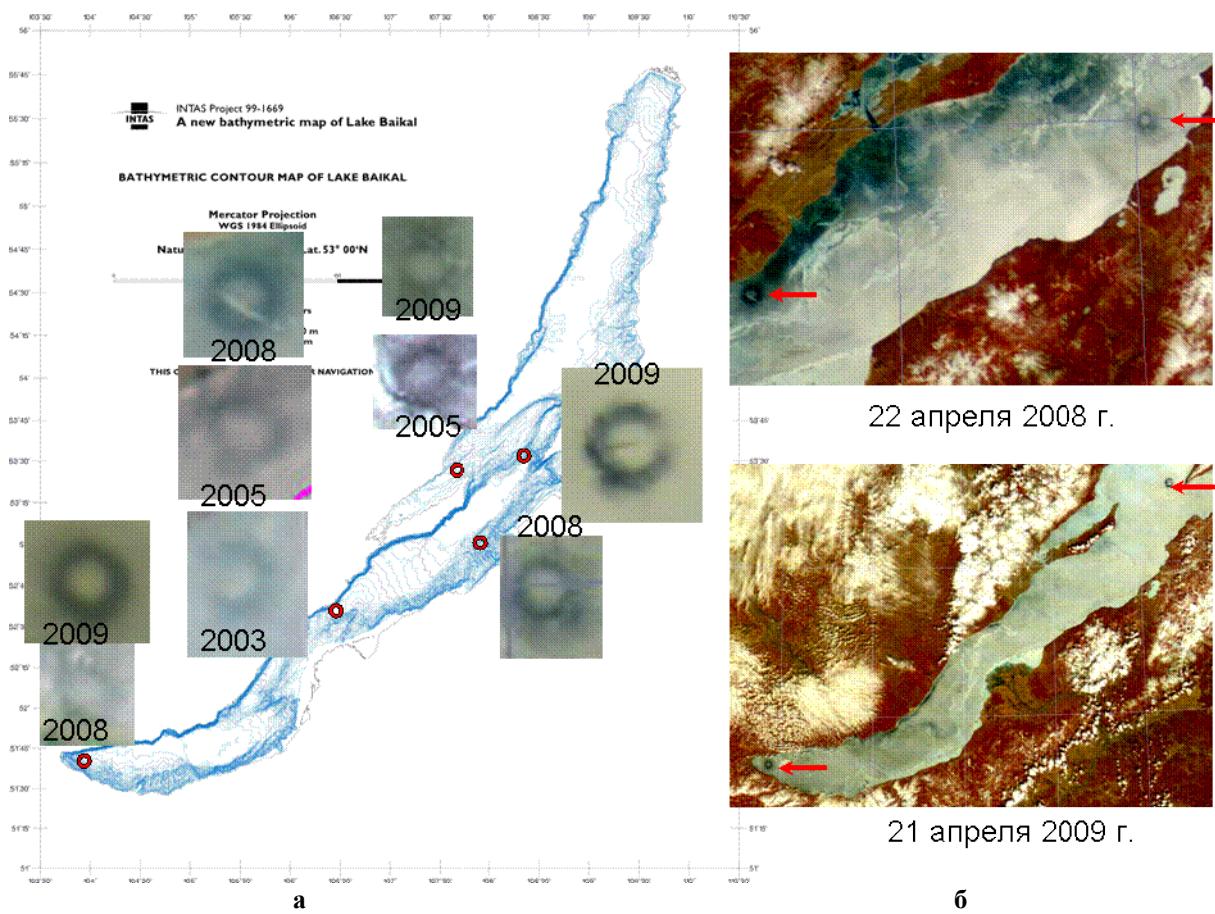


Рис. 1. Кольцевые структуры на льду озера Байкал (положение обозначено красными кружками), показаны фрагменты спутниковых снимков – а; спутниковые снимки с кольцевыми структурами в 2008 и 2009 гг. – б

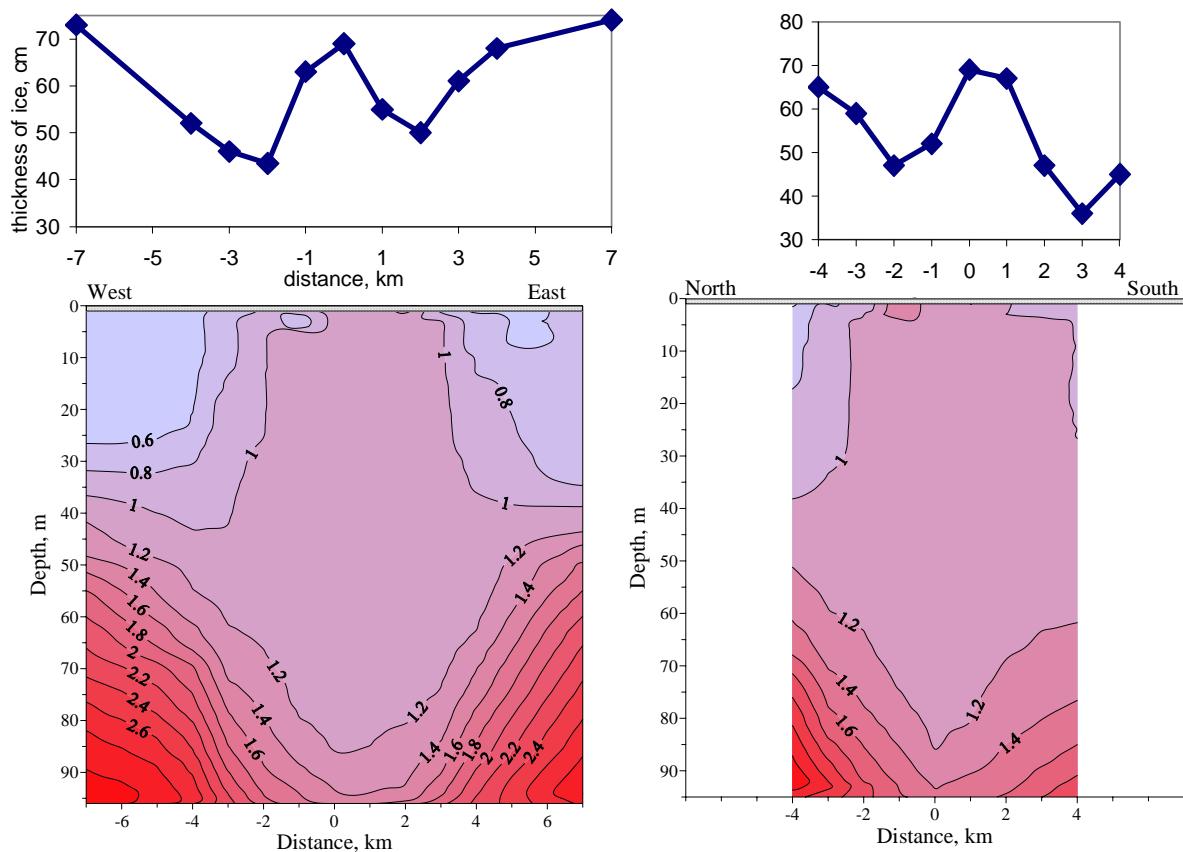


Рис. 2. Толщина льда и вертикальное распределение температуры на разрезах пересекающих кольцевую структуру.

Значительная часть исследований в текущий период была выполнена совместно с Институтом океанологии РАН им. П.П. Ширшова с использованием глубоководных обитаемых аппаратов «МИР». Были исследованы в основном те районы, где в предыдущий период выявлены различные аномалии – залегания гидратов метана, грязевые вулканы, естественный выход нефти. В погружениях 2009 г. на ГОА «МИР» вблизи одной из аномалий - «газового факела» - были обнаружены выходы газовых гидратов, мощностью несколько метров (рис. 3). По плану, предложенному Лимнологическим институтом СО РАН в рамках программы «Глубоководные исследования озера Байкал», состоялось 51 погружение, в которых участвовало 36 исследователей Института. Кроме того, в рамках ЦКП «Глубоководные исследования» погрузилось 11 ученых из других институтов СО РАН и РАН.



Рис. 3. Фотография газовых гидратов, полученная при погружении в зоне «факела» Санкт-Петербург.

Анализ многолетних (1971-2009 гг.) наблюдений за температурой глубинной зоны Байкала показал, что влияние изменений климата, особенно потепления с начала 1970-х до середины 1990-х годов, проявилось пока лишь для вод верхней (0-300 м) зоны озера, в которой тренд температуры был положителен. В глубинной зоне озера ниже 300-400 м многолетний тренд температуры отсутствовал. Это означает, что турбулентный перенос тепла в глубинные слои в среднем за период компенсировался их охлаждением в результате глубинной конвекции весной и в начале зимы. Наблюдаемые в пределах зоны межгодовые колебания температуры вызывались нарушениями баланса тепловых потоков, в основном из-за изменений активности глубинной конвекции и интрузий холодных вод из верхней зоны.

По наблюдениям в 1993-2009 гг. с использованием высокоточной измерительной аппаратуры обнаружено, что в разные годы общий объем интрузий существенно изменяется (рис. 4). Интрузионное обновление придонных вод происходит не синхронно в разных котловинах и отличается по объемам.

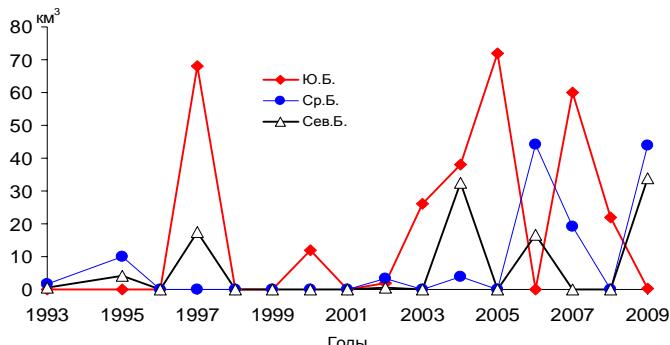


Рис. 4. Объемы «холодных» вод проникавших в придонную зону отдельных котловин Байкала 1993-2009 гг.

#### **В лаб. гидрологии и гидрофизики разрабатывается: Оборудование для биологических исследований**

- Культиватор для выращивания фитопланктона при контролируемых условиях (освещенность, температура).
- Программно-аппаратный комплекс для регистрации эхолотного сигнала используется для гидроакустического мониторинга численности омуля и для поиска и мониторинга активности газовых факелов.

#### **Оборудование для исследований ледового покрова**

- Термисторные косы для регистрации вертикального распределения температуры во льду и верхнем слое воды.
- Гидроакустический измеритель толщины льда для мониторинга ледового покрова.
- Акустический комплекс для регистрации шумов льда.

#### **Оборудование для гидрометеорологического мониторинга**

- В п. Листвянка и на стационаре в п. Большие Коты установлены станции для регистрации гидрометеорологических параметров и уровня озера с передачей информации в реальном масштабе времени на сервер института.
- Разработаны автономные буи для регистрации метеоусловий внутренних и поверхностных волн, а также приповерхностных течений с передачей информации в реальном масштабе времени на сервер института.

#### **Гидроакустическое оборудование**

- Автономный регистратор акустических шумов.
- Комплекс для исследования дальнего распространения звука используется для исследования ослабления акустических сигналов.
- Освоена технология изготовления гидрофонов.



Диапазон температур:  
0 ... +20 °C

Стабильность  
поддержания  
температуры:  
±0,06 °C

Диапазон  
освещенностей:  
0 ... 45  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

Моделирует суточные  
циклы освещения

Культиватор для  
выращивания  
фитопланктона при  
контролируемых  
условиях  
(освещенность и  
температура).

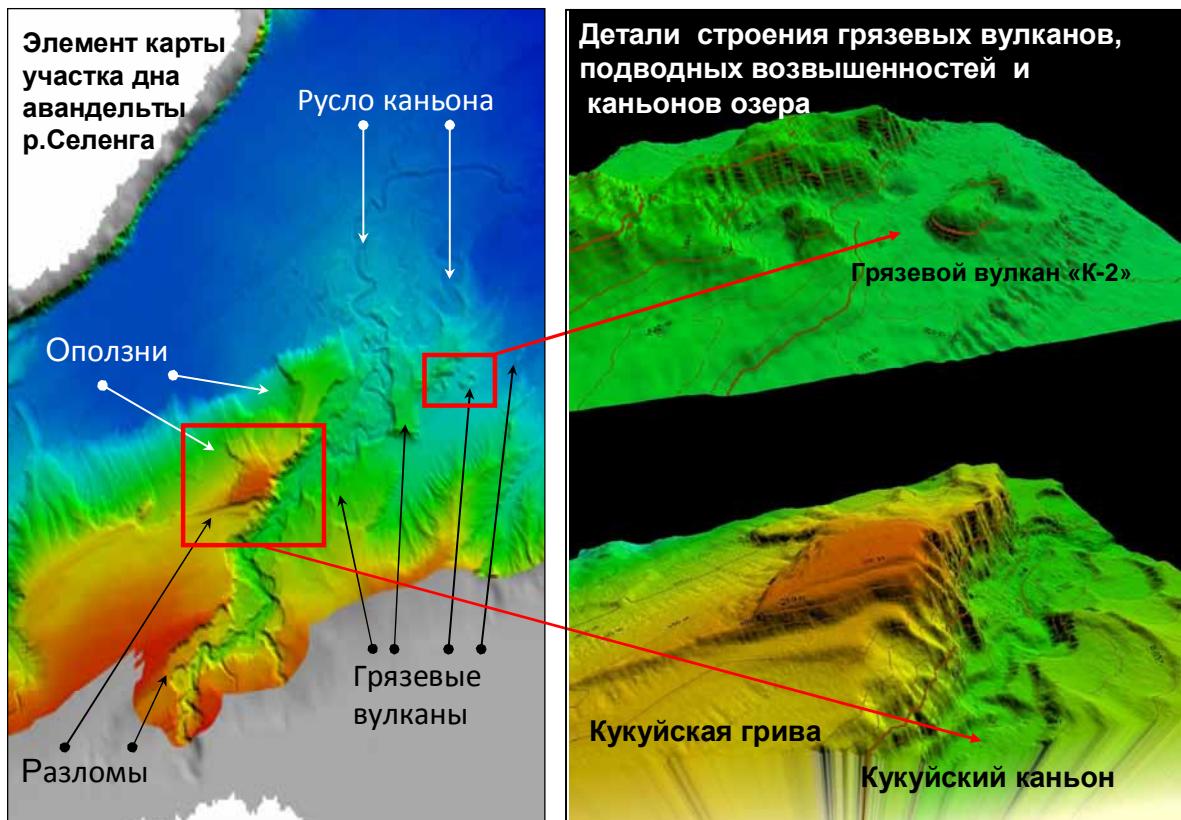


Автономный гидроакустический измеритель толщины льда для мониторинга ледового покрова (слева), гидрофоны со встроенными усилителями и автономным питанием (справа).



Термисторные косы для регистрации вертикального распределения температуры во льду и верхнем слое воды.

Впервые проведена высокоразрешающая батиметрическая съемка дна южной и средней котловин озера Байкал на площади 15000 км<sup>2</sup>, пройдено 12600 км непрерывных акустических профилей и получено более 56 млн. точек глубин. На основе этих данных строится современная батиметрическая карта, в 4 раза превышающая по разрешению, существующие. Выявлено множество новых подводных структур, проливающих новый свет на подводную геологию Байкала – системы тектонических разломов, захороненные



подводные русла, участки размыва субресцентных донных отложений подводными течениями (в частности на Академическом хребте), подводные грязевые вулканы. Благодаря этим исследованиям озеро Байкал стало одно из первых глубоководных озер с детально изученной батиметрией глубинной зоны.

На современном этапе климатических изменений, впервые определено содержание углекислого газа в атмосфере над акваторией Байкала, показаны его суточные и сезонные различия. Весной, несмотря на то, что в это время происходит максимальное развитие диатомового фитопланктона, поток направлен в атмосферу. В летне-осенний период происходит сток углекислого газа на водную поверхность озера за счет интенсивного фотосинтеза, осуществляющегося в это время фотосинтезирующим пикопланктоном. По данным синхронных измерений он в три раза интенсивнее в пелагиали, чем в литорали озера (рис. 5). В среднем годовом цикле акватория озера является стоком углекислого газа.

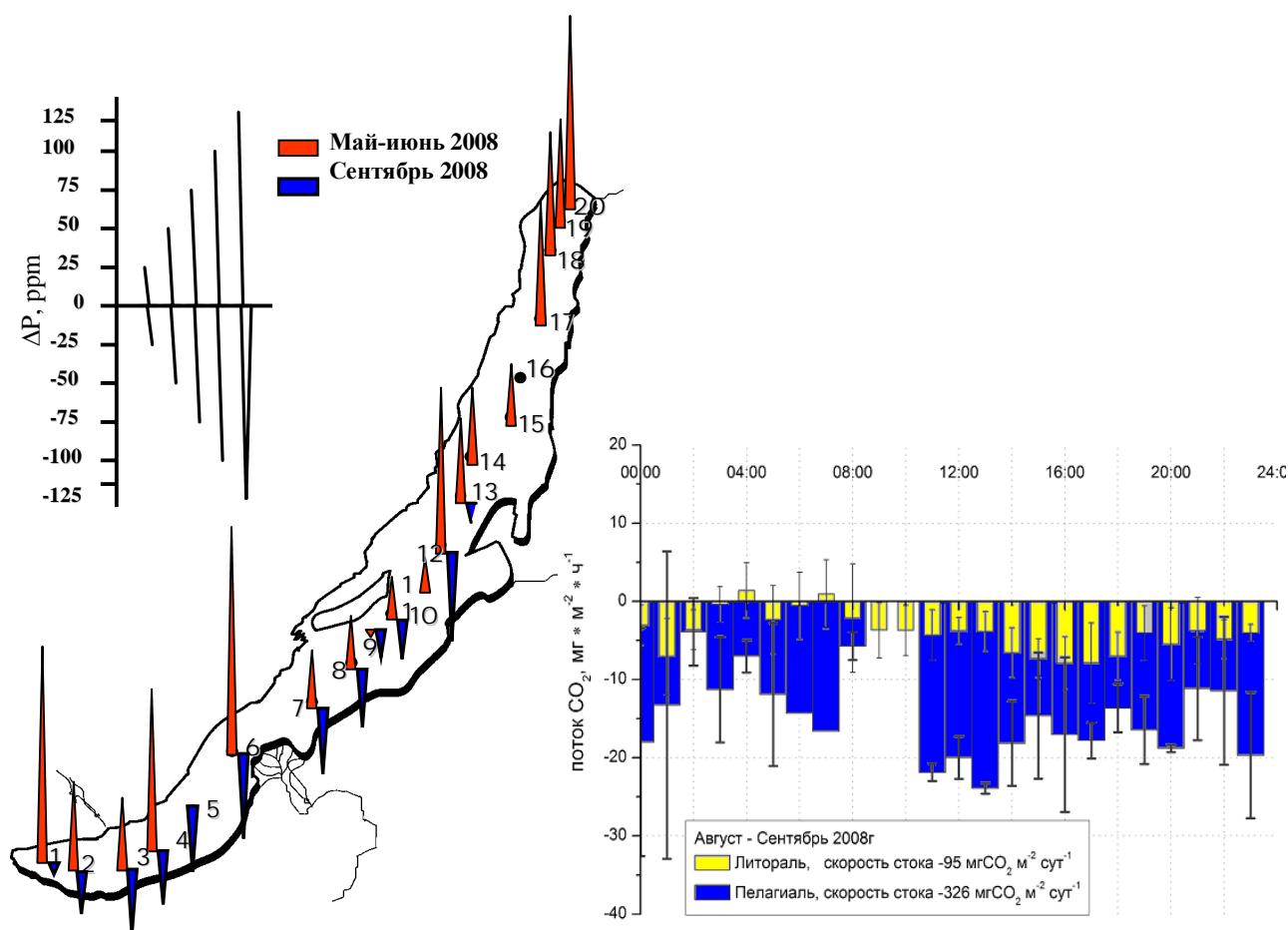


Рис. 5. Разница парциальных давлений CO<sub>2</sub> в воде и атмосфере в пелагиали и поток CO<sub>2</sub> в системе вода-атмосфера в литорали и пелагиали озера Байкал.

Исследовано распределение 14 органических ароматических углеводородов (ПАУ) в снежном покрове промышленных и фоновых районах Южного Прибайкалья и

акватории озера Байкал (рис. 6). Максимальные уровни накопления установлены в снежном покрове в районе мощных их источников: г. Шелехов, Черемхово, Слюдянка, Иркутск . Накопление ПАУ в снеге на акватории Южного Байкала в 100 раз ниже чем в районах промышленных центров Прибайкалья, что свидетельствует о минимальном переносе этих экотоксикантов в зимний период на оз. Байкал.

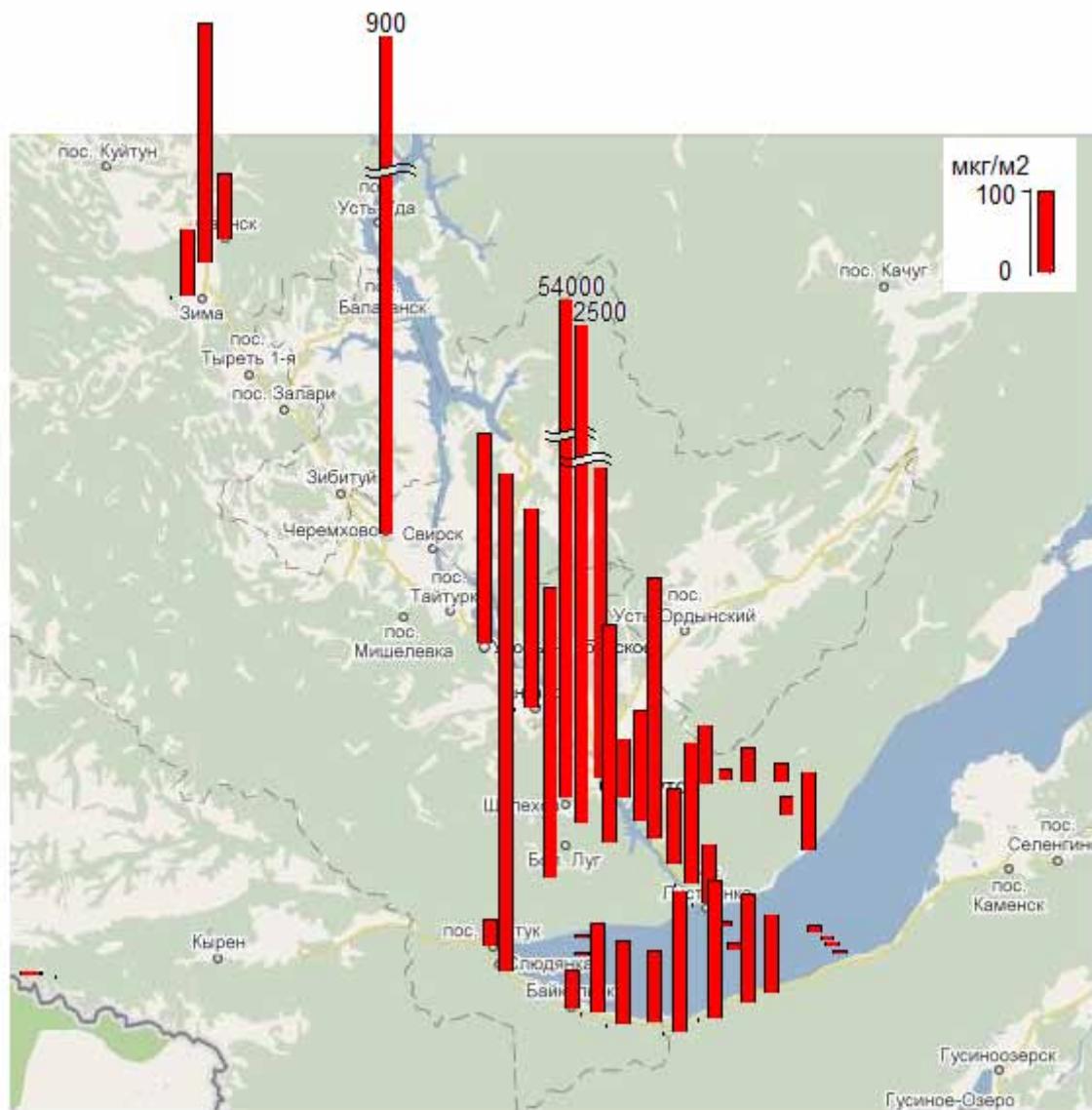


Рис.6. Уровни накопления ПАУ(мкг/м<sup>2</sup>) в снежном покрове Южного Прибайкалья, зима 2009-2010г.г.

Определены современные уровни загрязнения нефтепродуктами поверхностных и придонных вод озера Байкал (рис. 7). За исключением участков естественных выходов нефти в районе Среднего Байкала (превышение до 3-40 ПДК) концентрации нефтепродуктов не превышают ПДК, установленные для водоемов рыбохозяйственного назначения (50 мкг/л). Загрязнение вод нефтью в районах естественных нефтепроявлений в районе Среднего Байкала происходит на ограниченном участке, вследствие деятельности углеводородокисляющих микроорганизмов. В притоках

Северного Байкала: реках - Рель, Томпуда, Верхняя Ангара, Тыя, содержание нефтепродуктов (8-10 мкг/л) соответствует фоновым значениям, свидетельствующим об отсутствии загрязнения северных участков водосборной территории озера данным классом органических загрязнителей.

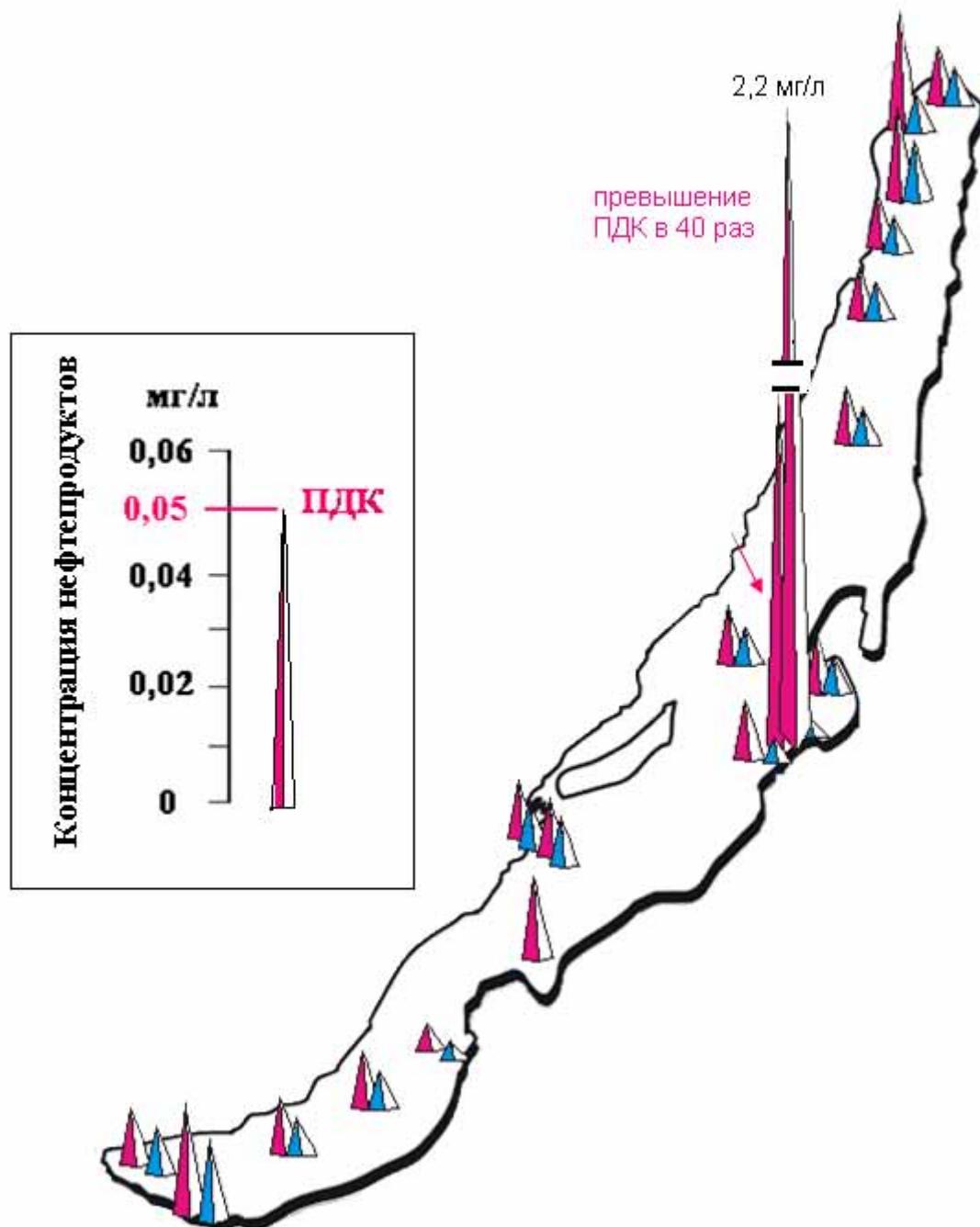


Рис. 7. Концентрация нефтепродуктов ниже ПДК в поверхностных - и придонных - слоях воды озера Байкал, июнь – июль 2006, 2008 гг

В связи с тем, что в ходе многолетних исследований на Байкале разработаны точные и высокочувствительные методы гидрохимического анализа ультрапресных природных вод, прошедший международную интеркалибрацию Институт, применил их

для анализа снега, фирна и льда в Антарктиде. Керны из двух неглубоких скважин VK-07, VFL-1, пробуренных в 2006-2007 г.г. сотрудниками ААНИИ в районе ст. Восток (Антарктида), длиной 14.5. охватывали период с первой половины XX до середины X1V веков. Идентифицированы слои кернов, соответствующие крупным вулканическим событиям вулканов Тамбора (1815 г.) и Кракатау (1883 г.). В этих слоях отмечены повышенные концентрации сульфат-ионов (до 1000 мкг/л, рис. 8), низкие величины pH (до 4.7) и переносимые атмосферой вулканические частицы (тефры алюмосиликатного состава) (рис. 9). Ранее такие анализы в России в совместных исследованиях проводились только зарубежными партнерами.

По полученным данным определена средняя скорость аккумуляции фирна в верхних слоях кернов района ст. Восток. Она составила в точке VFL-1 2,09–2,19 г/см<sup>2</sup> год, в точке VK-07 – 2,05 г/см<sup>2</sup> год.

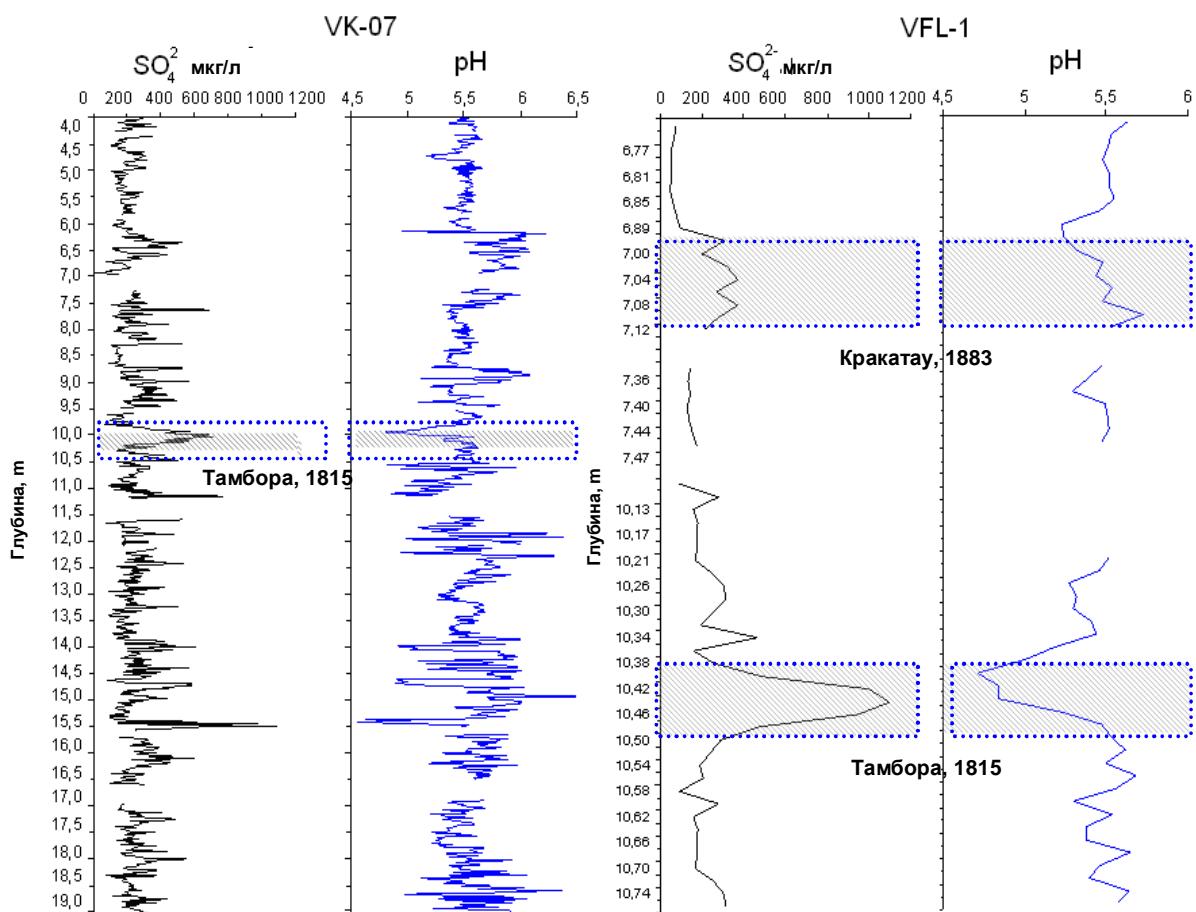
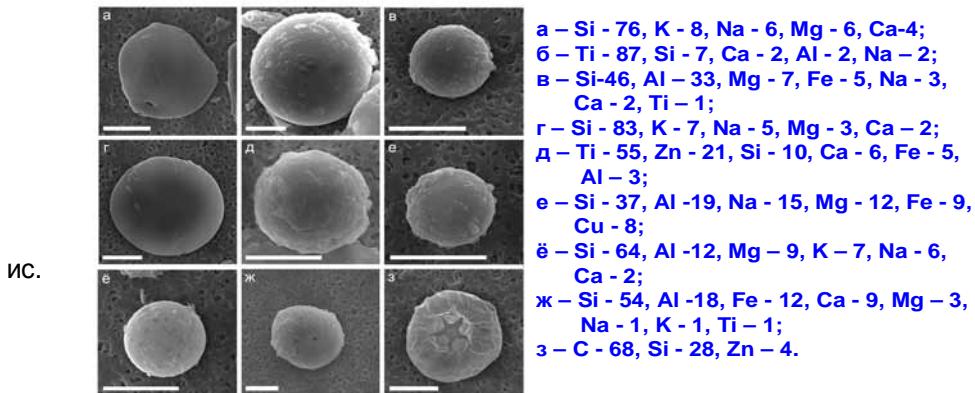


Рис. 8. Величина pH и концентрация сульфат-ионов в снежно-фирновых кернах скважин VK-07, VFL-1 ст. Восток, Антарктида. Штрихами показаны слои, содержащие следы вулканов Тамбора (1815) и Кракатау (1883)



9. Сферические частицы (в вес. %) из горизонта 10,11- 0,62 м скважины VK-07, (вулкан Тамбора).  
Масштаб – 10 мкм.

В сотрудничестве с Росгидрометом РФ продолжается участие лаб. гидрохимии и химии атмосферы в качестве Национального центра данных в международной программе «Сеть мониторинга кислотных выпадений в Восточной Азии (Acid Deposition Monitoring Network in East Asia, EANET)». По результатам международных квалификационных испытаний качества выполняемых анализов, лаборатория гидрохимии и химии атмосферы, выбрана в качестве одного из основных исполнителей по изучению снежно-firновых и ледяных кернов из района ст. Восток (Антарктида). Эти исследования выполняются совместно с мировым лидером - Лабораторией гляциологии и геофизики окружающей среды, Франция. В 2009 году между Россией и Францией подписано соглашение о продлении Европейского научного объединения (ЕНО) по изучению ледяных кернов Восточной Антарктиды, в которое включен Институт.

По результатам исследования изотопного состава урана в донных отложениях оз. Байкал впервые получена высокоразрешающая (200 лет) реконструкция влажности климата за последние 150 тыс. лет, а также реконструировано перераспределение влаги между основными водосборными провинциями бассейна озера (рис. 10).

Исследованиями элементного состава осадков установлено, что за последние 500 тыс. лет во все ледниковые периоды вклад р. Селенги, как в водный бюджет, так и в твёрдый сток значительно снижался. Основная часть терригенного материала в ледниковые периоды поступала не из селенгинского водосбора, а из других провинций бассейна.

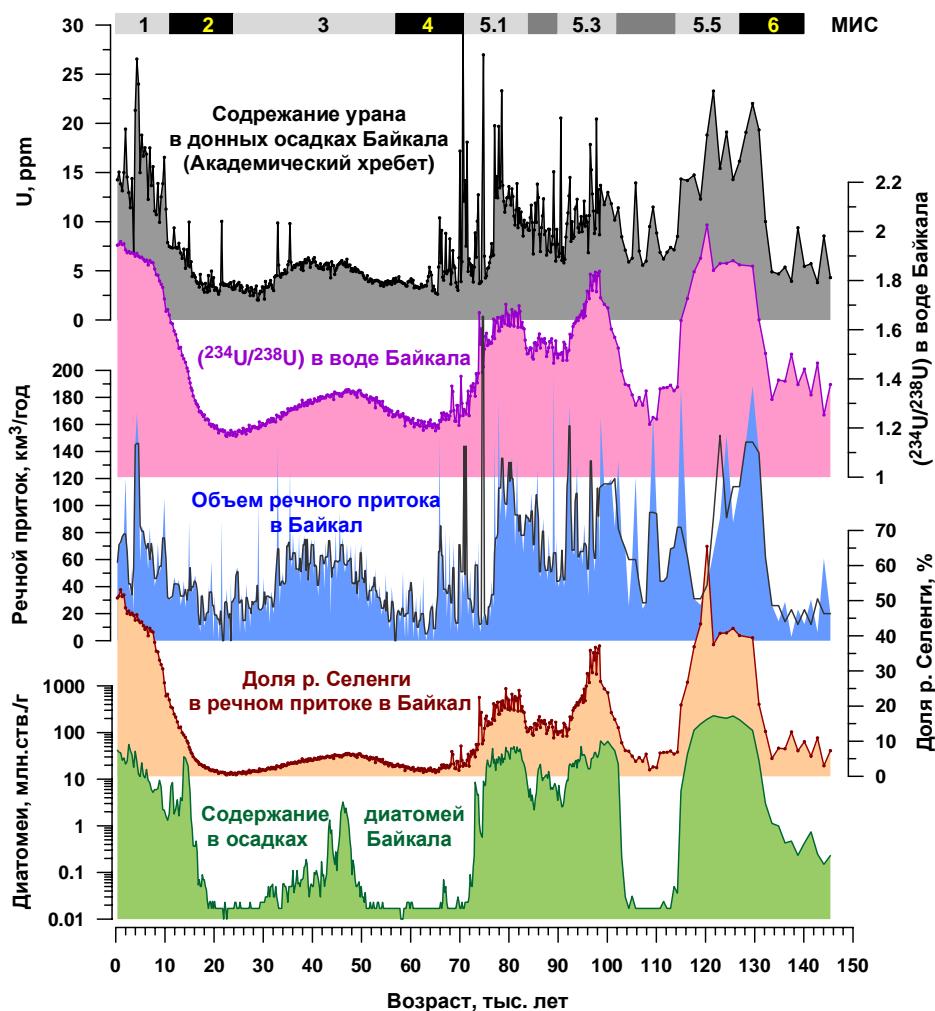


Рис. 10. Летописи индикаторов изменения климата в осадках оз. Байкал за последние 150 тыс. лет и реконструированные объем речного притока в озеро и доля р. Селенги в речном притоке.

Получены высокоразрешающие (100-200 лет) летописи элементного состава осадков Охотского моря за последний ледниково-межледниковый цикл (150 тыс. лет). Установлено, что индикаторы биопродуктивности (биогенный барий) и др. сигналы изменения палеоклимата (влажность осадка, галогены) проявляют почти синхронный отклик с палеосигналами в осадках оз. Байкал (рис. 11). Синхронность профиля изменения выпадений влаги в бассейне Байкала и Амура, выявленные впервые в рамках настоящего исследования, вызывает удивление, т.к. источники влаги различаются, в случае Байкала – это Атлантика, в случае р. Амур – Тихий океан.

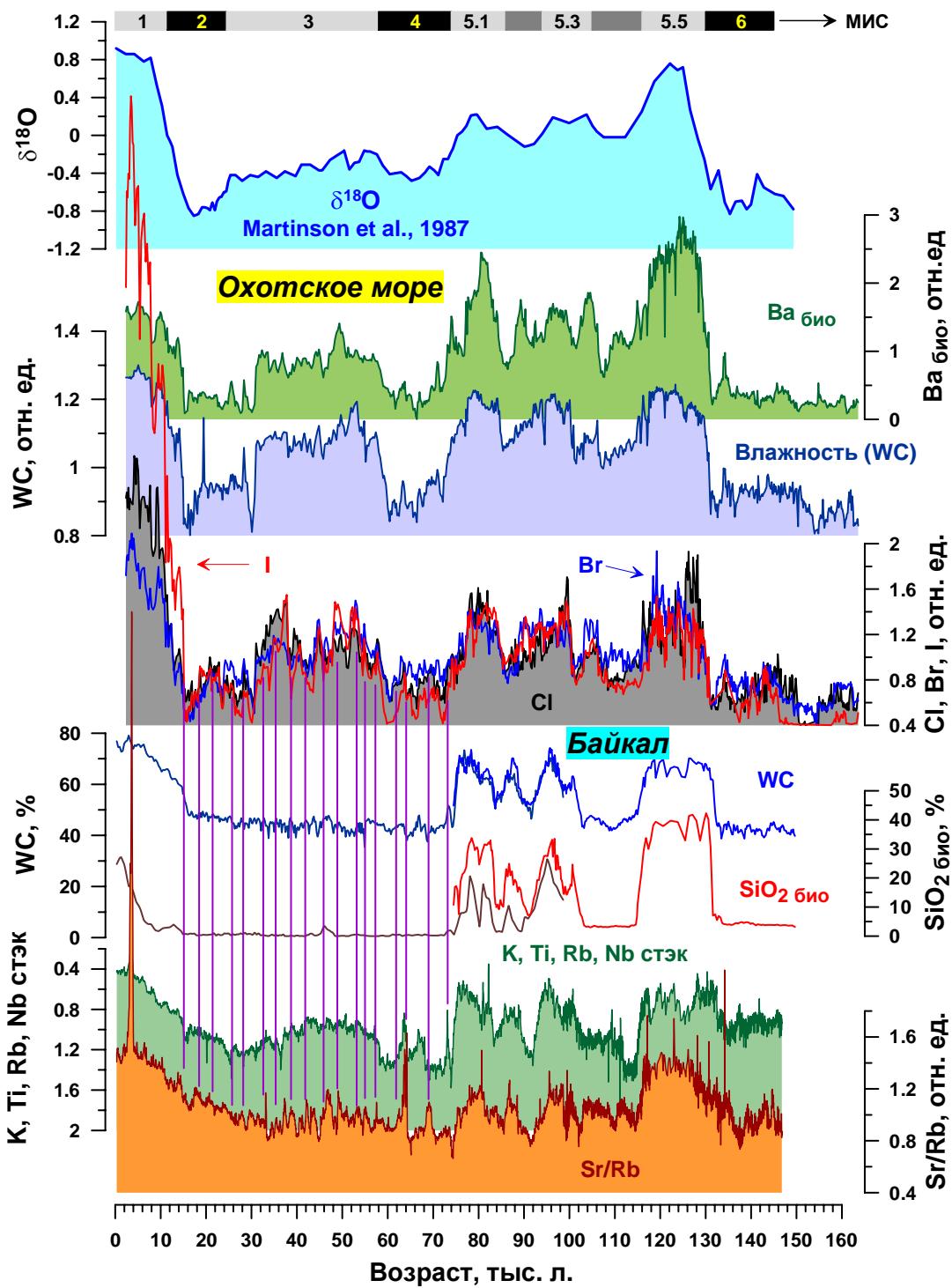


Рис 11. Корреляция индикаторов климата и окружающей среды оз. Байкал и Охотского моря. Содержание Cl, Br, I и влажности осадка (WC) - индикаторы теплых периодов Охотского моря; Ва\_био – индикатор экспорта продукции на дно Охотского моря. K, Ti, Rb, Nb стэк характеризует источник сноса терригенного материала из водосбора оз.Байкал; Sr/Rb индикатор выветривания (соотношение Ca-K полевых шпатов) в водосборе оз. Байкал. Детальные записи показывают почти синхронные и подобные отклики Восточной Сибири и Охотского моря при глобальных изменениях климата. Ни одна из теплых подстадий стадии MIS 5 не представлена единым пиком. Во время всех теплых подстадий наблюдался, по крайней мере, один эпизод существенного похолодания. Во время MIS 2-4 в обоих регионах наблюдаются синхронный отклик на D/O события в Гренландии (фиолетовые линии).

На основе распределения геохимических показателей в буровом керне KDP-01 из озера Хубсугул (Монголия) определены три макро-стадии развития регионального

палеоклимата за последний 1 млн. лет (рис. 12). На основе измерений изотопов углерода и кислорода в створках остракод из керна донных осадков оз. Хубсугул, установлено, что хубсугульские изотопные летописи близко соотносятся с морскими изотопно-кислородными шкалами, регистрирующими глобальные климатические изменения в плейстоцене. Полученная летопись позволяет реконструировать изменения температурного режима, дегляциации ледников и палеоландшафтов Северной Монголии.

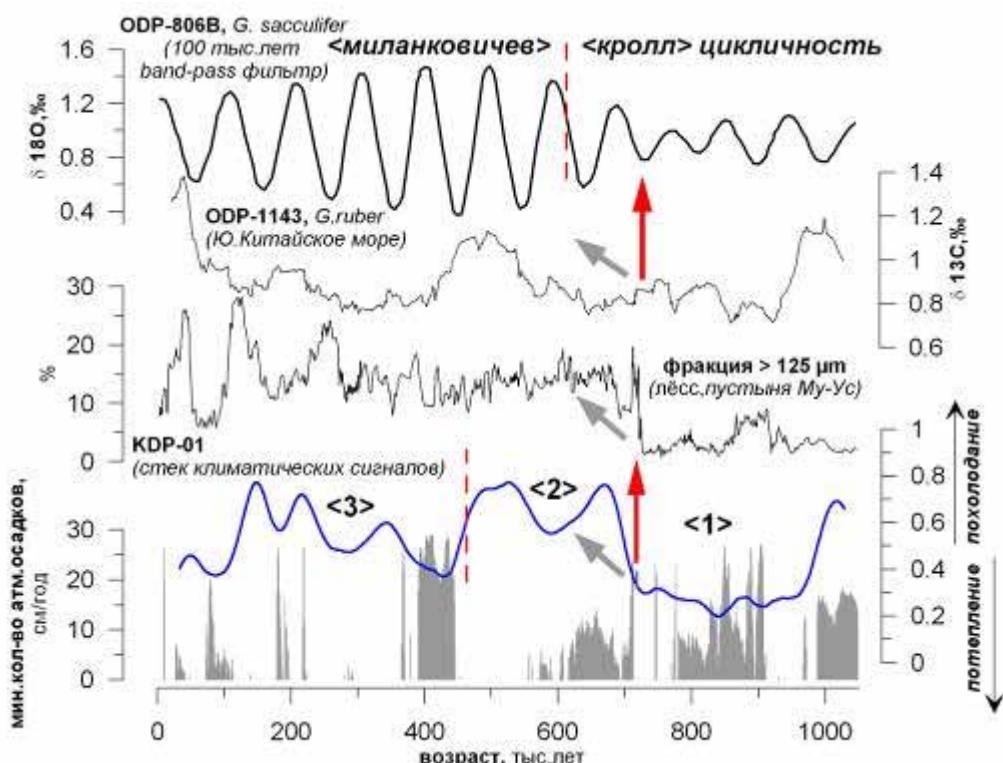


Рис. 12. Реконструированная разность Р-Е (атмосферных выпадений минус испарение, нулевые значения соответствуют доминированию испарения над выпадением атм. осадков) в водосборе оз.Хубсугул (заштриховано) и геохимический стек климатических сигналов, характеризующих периоды опреснения вод палео-Хубсугула, как отклик на изменение регионального режима увлажнения и температуры.

Исследованы кремнистые стоматоцисты хризофитовых водорослей, являющиеся индикаторами изменения условий окружающей среды, из нескольких водоемов и осадков различного возраста (рис. 13, 14). Описано более 160 новых морфотипов. Показано изменение биоразнообразия морфотипов цист с глубиной осадка, что имеет стратиграфическое значение. Изучена сезонная динамика морфотипов цист в планктоне оз. Байкал. Полученные данные могут служить дополнительным критерием в построении палеореконструкций и экологического состояния водоемов.

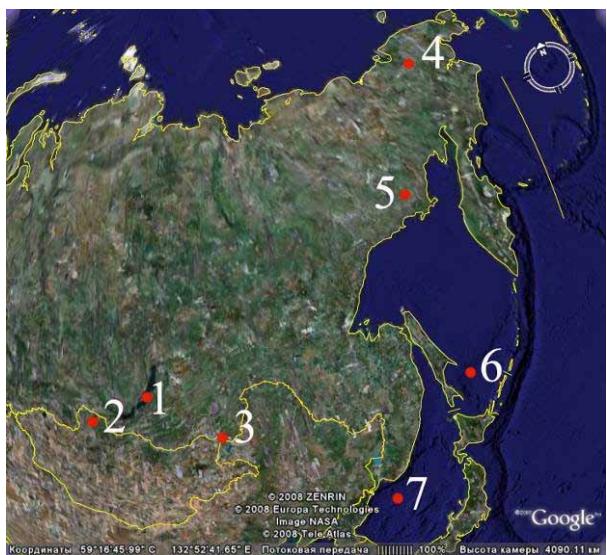


Рис. 13. Карта отбора проб. 1 – оз. Байкал; 2 – оз. Хубсугул; 3 – Харанорское водохранилище; 4 – оз. Эльгыгытгын; 5 – оз. Эликчан; 6 – Охотское море; 7 – Японское море.

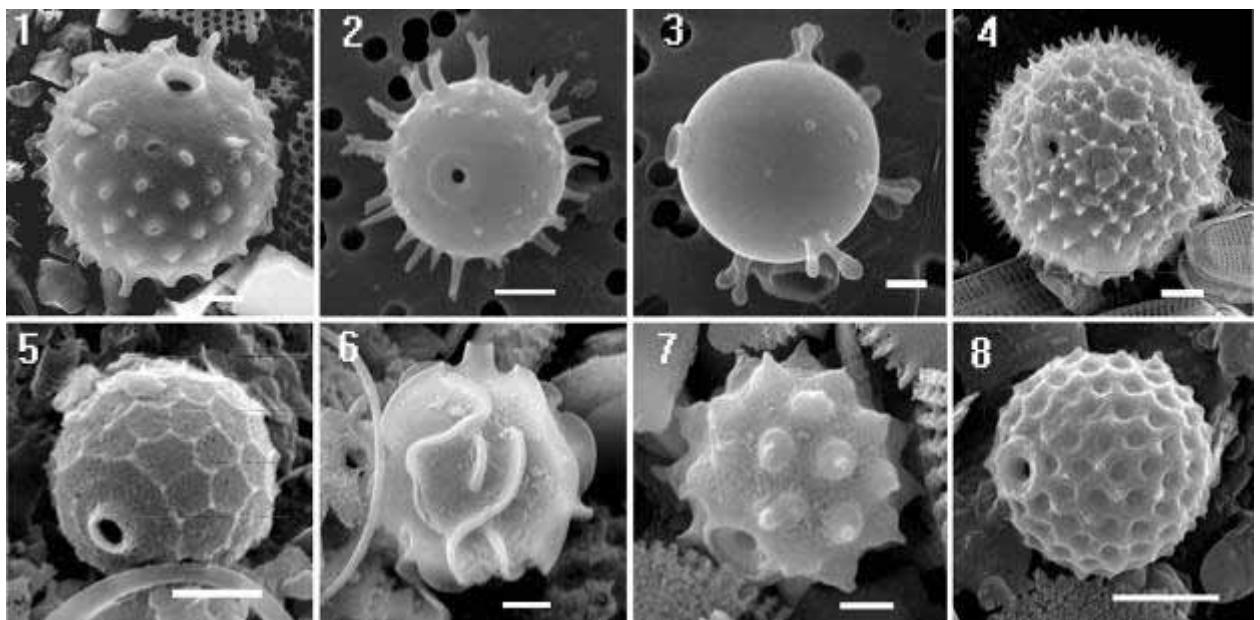


Рис. 14. Стоматоцисты хризофитовых водорослей из разных источников: 1- плиоценовые отложения оз. Байкал; 2, 3 – планктон оз.Байкал; 4 – голоценовые осадки оз. Эльгыгытгын; 5 – миоценовые отложения Охотского моря; 6, 7 – голоцен-верхнеплейстоценовые осадки оз Хубсугул; 8 – миоценовые отложения Витимского плоскогорья.

В зоне разгрузки газо-нефтесодержащих флюидов с помощью глубоководных обитаемых аппаратов «МИР», совместно с Институтом океанологии РАН им. П.П. Ширшова, впервые на озере Байкал открыты и обследованы битумные постройки, высотой от 0,5 до 10 м и диаметром от 10 см до 60 м. Методом газожидкостной хроматомассспектрометрии установлено, что они в основном, состоят из битума и газовых гидратов с небольшой примесью терригенного материала. Их формирование происходит в результате охлаждения и депарафинизации углеводородсодержащих флюидов на границе «донные осадки-водная толща». При этом более высокопарафинистая часть нефти концентрируется на осадке, а постройки дополнительно цементируются образующимися из сопутствующего газа газовыми

гидратами. На битумных постройках описан новый для науки вид нематод, впервые отмечено развитие еще двух видов. Наибольшая плотность животных наблюдалась в зонах с повышенным тепловым потоком.

Из макробентосных животных обнаружены плоские и малощетинковые черви, личинки хирономид и губки. Из мейобентосных, как и в морях, доминируют нематоды. Преобладающей группой животных являются раки - амфиподы, а не характерные для морских биотопов двустворчатые моллюски, креветки, крабы и/или усоногие раки. На Байкале в зонах разгрузок метана отмечена повышенная плотность поселения беспозвоночных животных, их численность в таких зонах в 4-7 раз выше по сравнению с фоновыми районами озера Байкал. Жизнедеятельность сообществ обеспечивается вовлечением в пищевую сеть углерода метана через метанотрофные бактерии (рис. 15), а также высокой биомассой криптофитовых жгутиковых и цианобактерий.

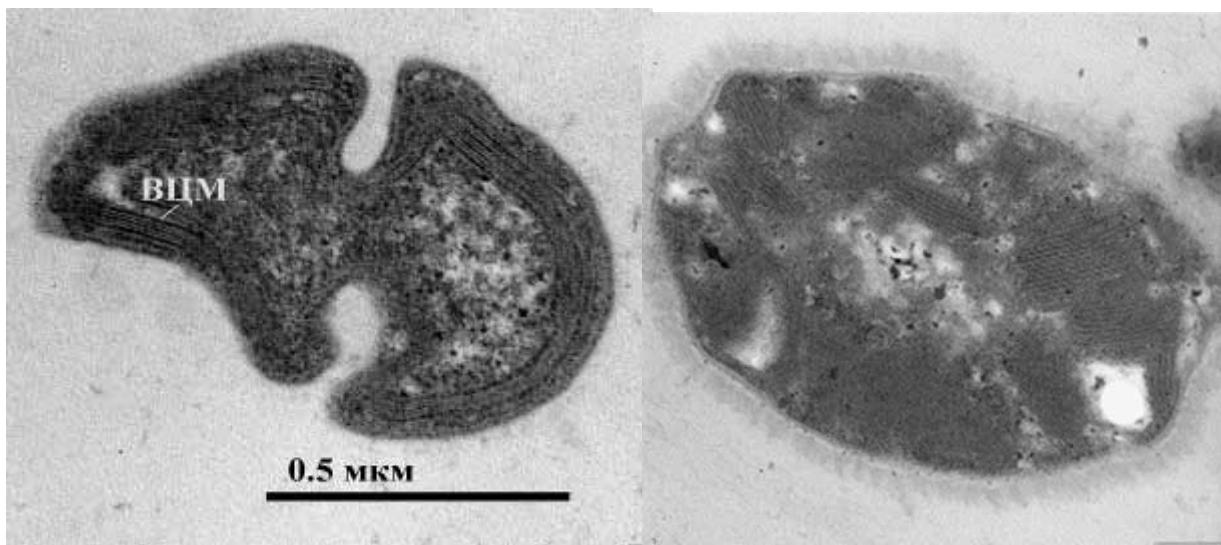


Рис. 15. Метанотрофные бактерии второго и первого типов.

С 2006 по 2010 гг. открыто и описано **3 новых для науки рода** (турбеллярии) и **68 видов** (2 – водоросли, 22 – инфузории, 3 – циклопы, 1 – брюхоногие моллюски, 7 – нематоды; 33 - турбеллярии). В рамках серии «Справочники и определители по фауне и флоре озера Байкал» издано три монографии.

В результате электронно-микроскопического изучения планктонных водорослей более 90 высокогорных озер Прибайкалья и Забайкалья в 7 из них (рис. 16) были найдены диатомовые (рис. 17), которые ранее считались эндемиками оз. Байкал. *Aulacoseira baicalensis* (1-3), *Stephanodiscus meyeri* (13-14), *Cyclotella baicalensis* (8) и *C. minuta* (9-11), а также спорообразующая *A. islandica* (4-7), и которые играют ключевую роль в современном озере. Эти находки позволяют предположить, что основным источником «эндемичной» диатомовой флоры Байкала могли быть древние небольшие озера водосбора Витима, которые временно сообщались с Байкалом вследствие образования ледовых плотин.

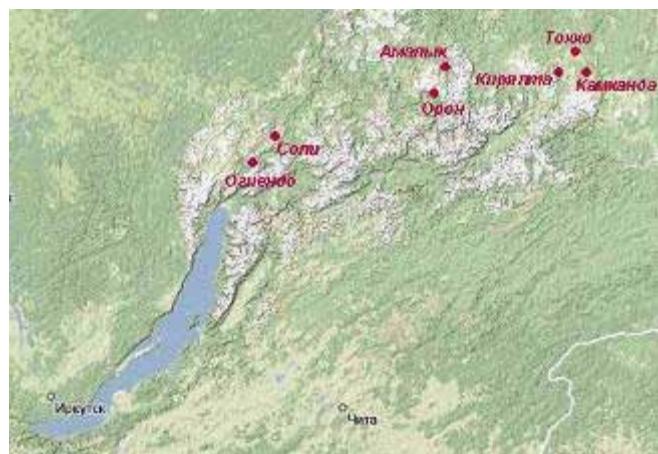


Рис. 16. Карта местонахождения озер, в которых найдены байкальские «эндемики».

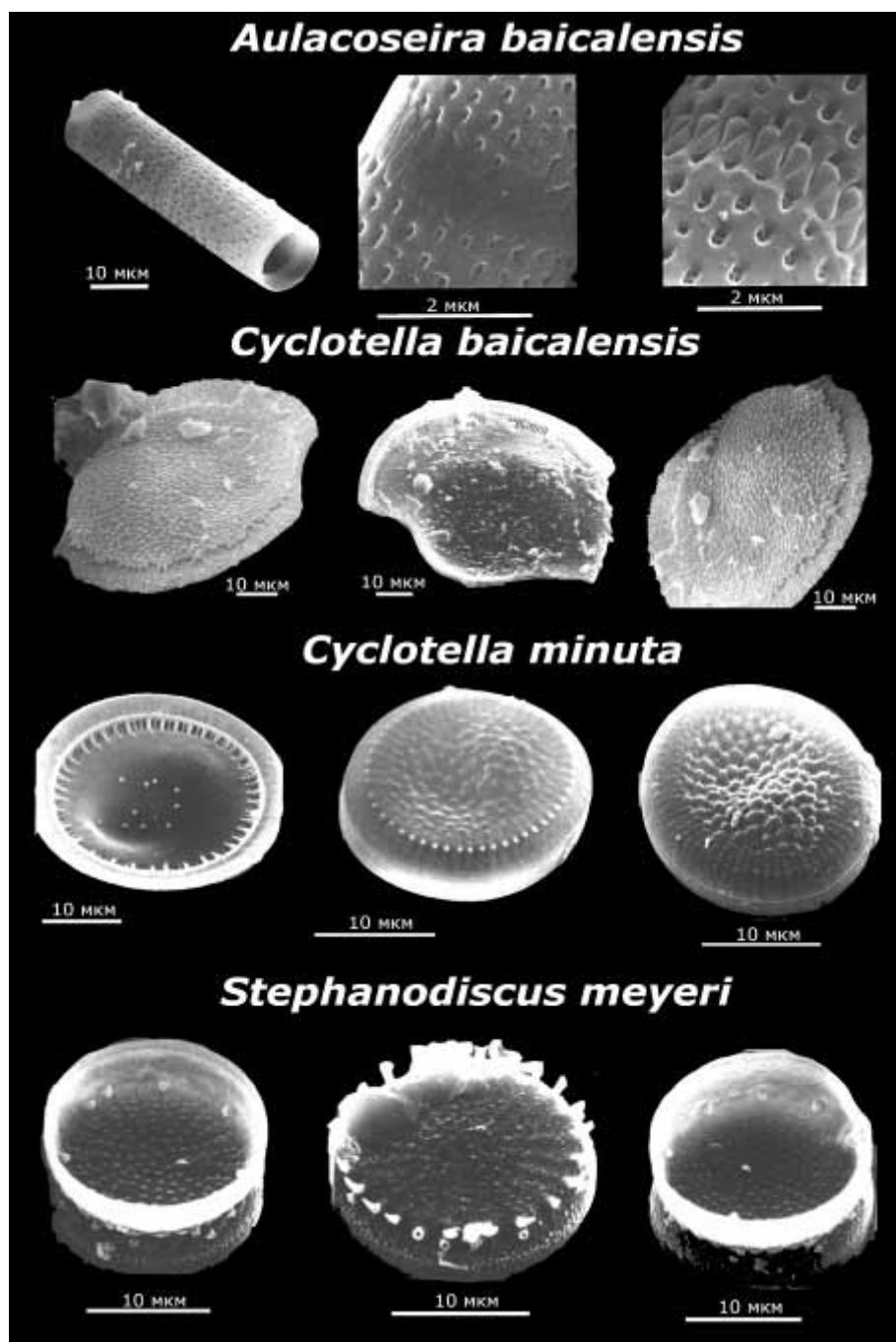


Рис. 17. Найденные байкальские «эндемики».

Впервые при помощи методов световой и сканирующей электронной микроскопии показана связь между пищевыми стратегиями нескольких видов амфипод и морфологией органов, отвечающих за захват и переработку пищи (рис. 18).

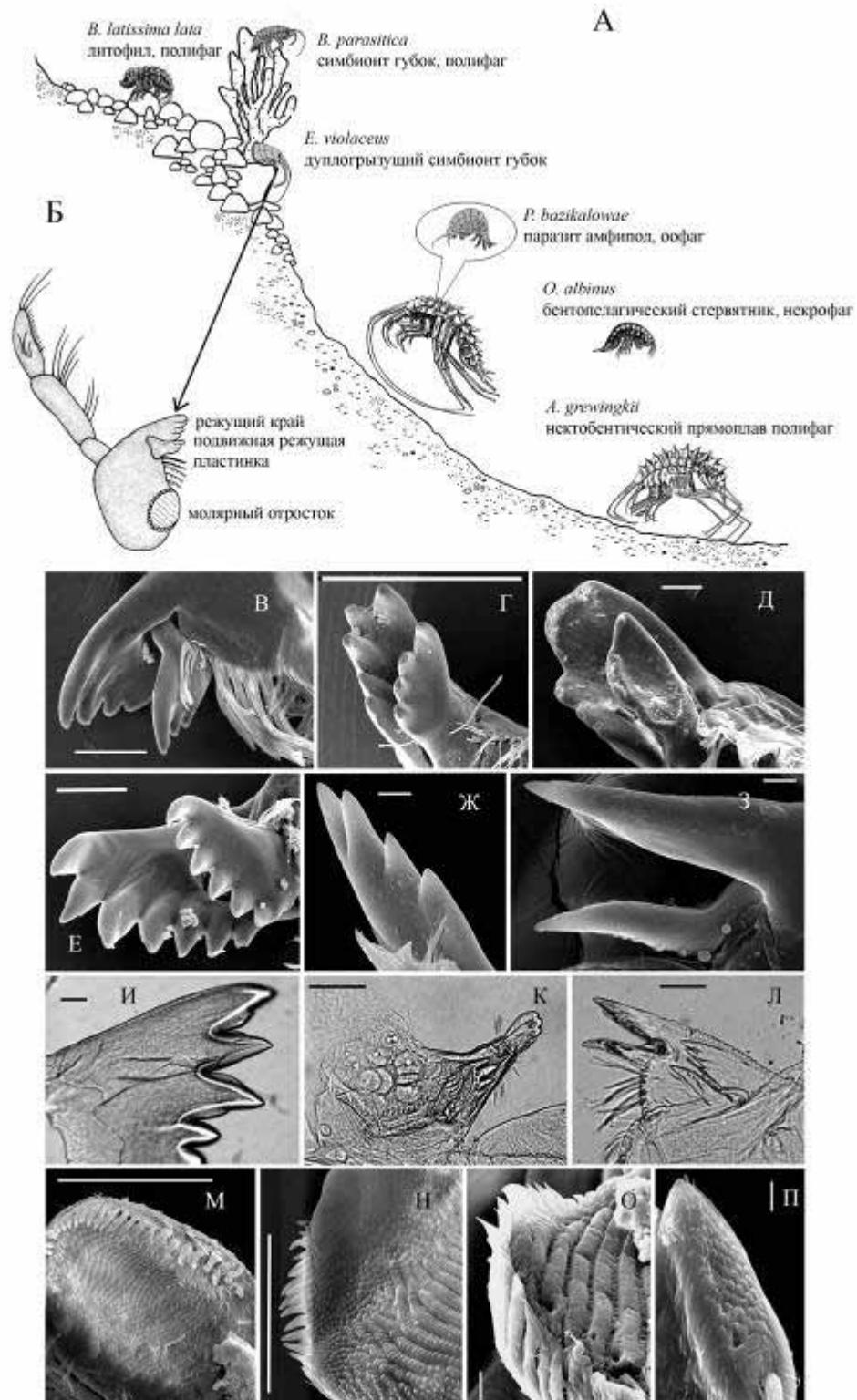


Рис. 18. А – схема биотического распределения исследованных видов амфипод разных жизненных форм, Б – схема строения мандибулы, С – режущие части мандибулы *B. latissima lata*, Д – режущие части мандибулы *A. grewingkii*, Е – режущие части мандибулы *E. violaceus* (зубцы почти полностью изношены), Ж – режущие части мандибулы *O. albinus*, З, И – режущие части мандибулы *P. bazikalowae*, К – зубцы режущего края мандибулы *A. grewingkii* (видна “коронка”), Л – режущие части мандибулы *B. latissima lata* в предлиночный период (внутри “старой” мандибулы с

изношенными зубцами видна “новая” с острыми зубцами), М – режущие части мандибулы *P. bazikalowae* в предлиночный период (зубцы мандибулы за межлиночный период не изнашиваются), Н – молярный отросток с рядами зубчиков *B. parasitica*, О – молярный отросток с рядами валиков *E. violaceus*, П – молярный отросток с рядами валиков *O. albinus*, Р – молярный отросток с шишковидными возвышениями *P. bazikalowae*.

В результате комплексных исследований показано, что геохимический состав и разнообразие первичных пород каменистой литорали являются важными факторами, обуславливающими распределение, высокую продуктивность и биоразнообразие бентоса в мелководной зоне Байкала (рис. 19). Наряду с процессами гидролиза, гидратации и окисления пород в литоральной зоне, деструкция минералов происходит по-видимому, за счет хелатирования органическими кислотами, разрушения их гифами и талломами лишайников, водорослей (рис. 20).



Рис. 19. Структура макрозообентоса на двух участках дна мелководной зоны Байкала, контрастных по составу геологических пород

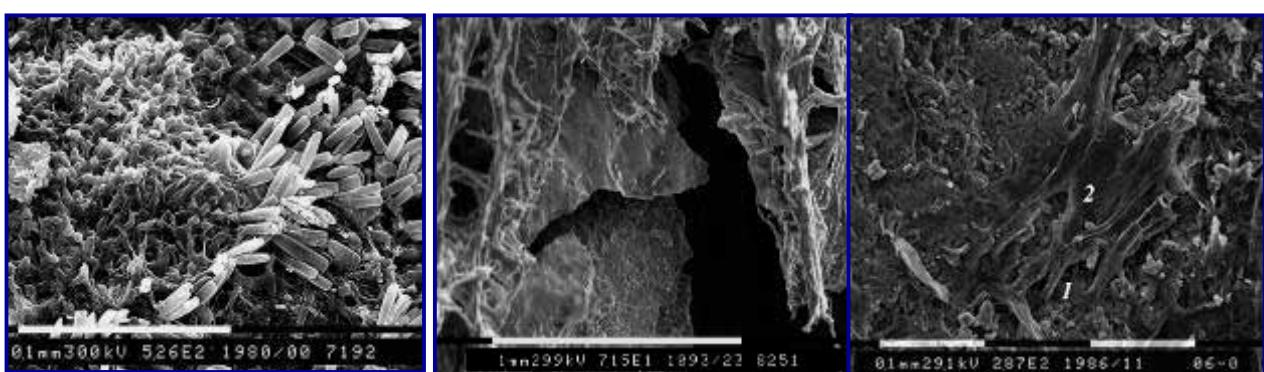


Рис. 20. (А) Симбиоз *Verrucaria* sp. (1) и диатомовых водорослей (2) внутри обломка горной породы; (Б) Проникновение спикул ветвистой губки (1) в каменный субстрат (2); (В) микрокаверны (1) на поверхности горной породы в области прикрепления талломов *Ulothrix zonata* (2).

Впервые с помощью методов электронной сканирующей и трансмиссионной микроскопии, атомно-силовой микроскопии (АСМ) и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС) изучен слуховой аппарат у нескольких видов эндемичных байкальских рыб (рис. 21) с целью проведения дальнейших экспериментальных исследований и выяснения механизма его действия.

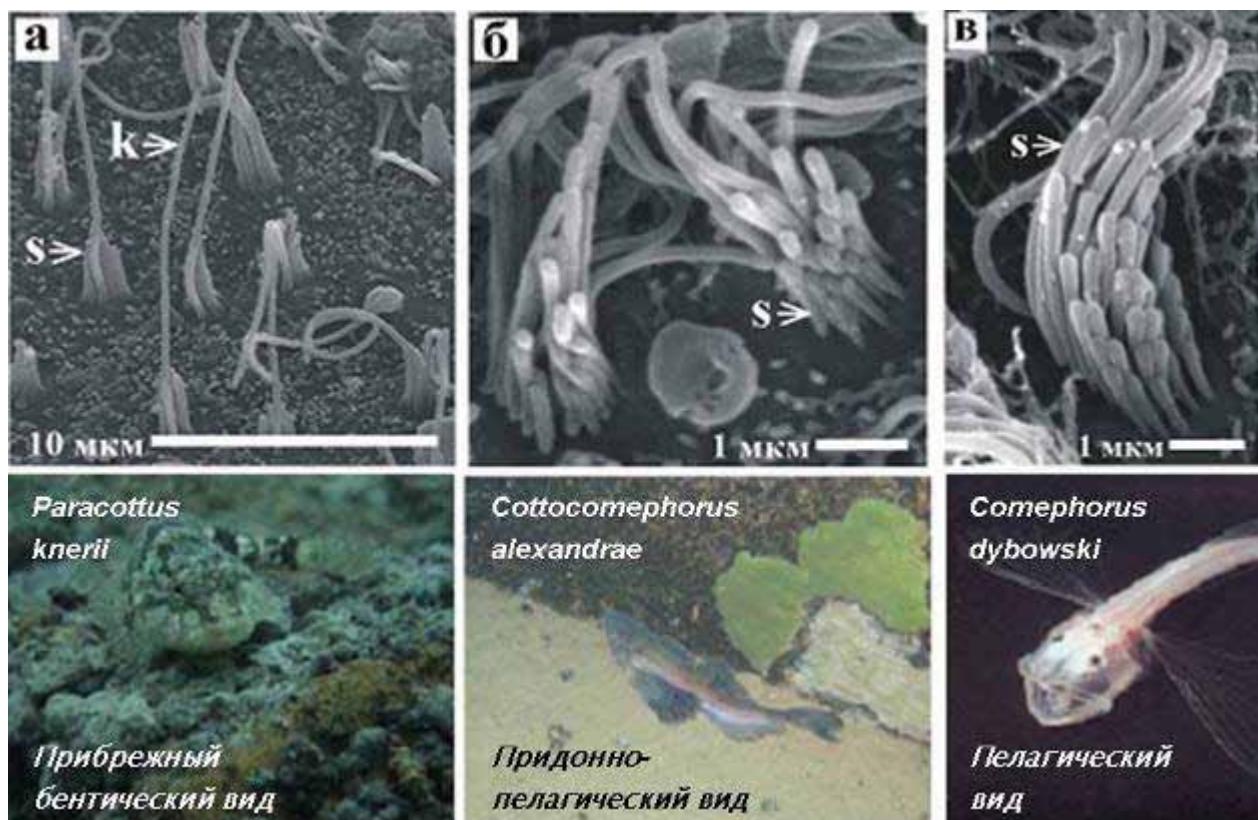
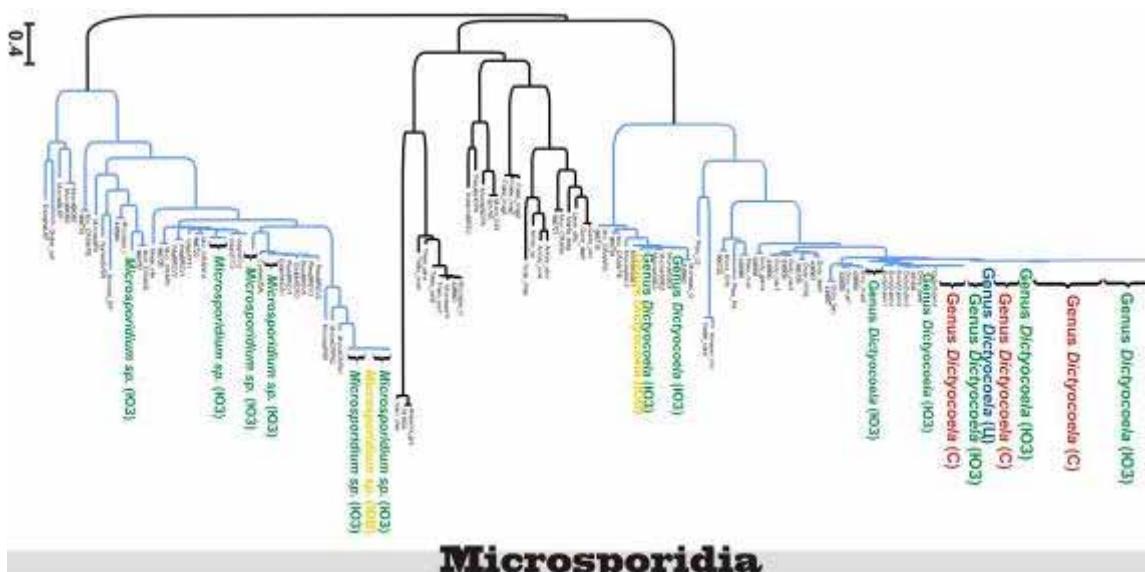


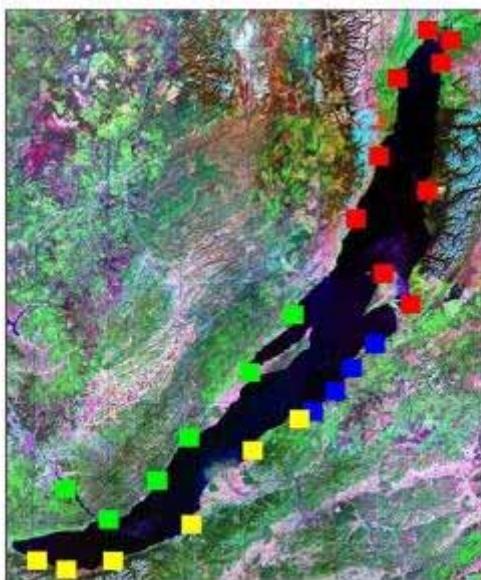
Рис. 21. Сенсорный слуховой саккулярный эпителий байкальских рогатковидных рыб, обитающих в разных условиях окружающей среды: *Paracottus knerii* (а), *Cottocomephorus alexandrae* (б), *Comephorus dybowskii* (в). Цилиарные пучки имеют короткие стереоциллии (s) и высокие киноциллии (k). СЭМ Philips 525M.

С помощью молекулярно-генетических методов показано, что внутриклеточные паразиты беспозвоночных – **микроспоридии** – по количеству видов превосходят видовое разнообразие своих хозяев. Например, для амфипод эта разница достигает пяти раз. Гены микроспоридий обнаружены также в эндемичных моллюсках Байкала.

Установлено, что видовой состав микроспоридий резко отличается у соседних популяций амфипод вида *Gmelinoides fasciatus*. Этих различий может хватать для того, чтобы поддерживать границу между популяциями в отсутствии географических барьеров. благодаря тому, что, как известно, видовой состав микроспоридий может определять избирательность при спаривании.



## Microsporidia



Карта распределения *G. fasciatus*  
в оз. Байкал

Филогенетическое древо, построенное по фрагменту 16S rDNA для микроспоридий. Синим цветом обозначены клады, в которые попадают микроспоридии, обнаруженные в Байкале у вида *G. fasciatus*. Зеленый, красный, желтый и синий цвета на древе соответствуют разным популяциям *G. fasciatus*. Черным цветом обозначены нуклеотидные последовательности микроспоридий, извлеченные из базы данных GenBank.

- Северная популяция (C)
- Центральная популяция (Ц)
- Юго-Западная популяция (ЮЗ)
- Юго-Восточная популяция (ЮВ)

Исследован полиморфизм нуклеотидных последовательностей в популяциях пяти сестринских видов эндемичных моллюсков рода *Baicalia*, различающихся стратегиями размножения и субстратными предпочтениями. Показано, что у них происходили яркие демографические события, когда периоды процветания и, соответственно, массовости сменялись периодами почти полного вымирания. Использование коалесцентных методов анализа генетического полиморфизма позволило предположить, что эпизоды процветания и вымирания моллюсков проходили в плейстоцене вследствие неоднократных резких колебаний климата, вызвавших частое появление и исчезновение новых экологических ниш (рис. 22).

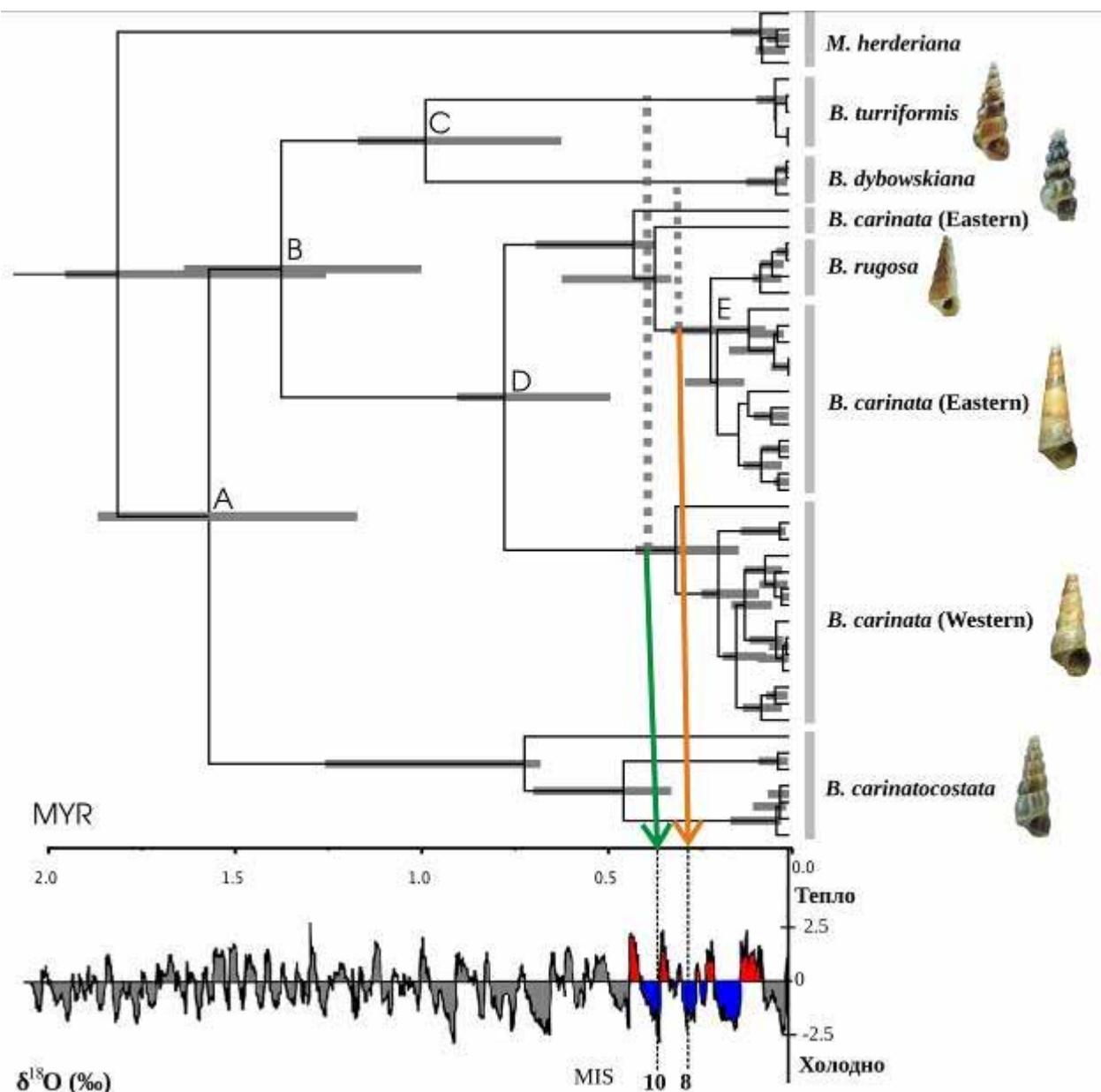


Рис. 22. Комбинированное филогенетическое древо с молекулярными часами, построенное для всех пяти видов рода *Baicalia* по двум молекулярно-филогенетическим маркерам (CO1 и ITS1) с 95%-ными доверительными интервалами. А, В, С, Д, Е – узлы дивергенции видов рода *Baicalia*. Ниже древа приведена климатическая кривая Шеклтона, охватывающая последние 2,0 млн. лет. Толстыми серыми пунктирными линиями обозначены времена интроверсии мтДНК. Тонкие пунктирные линии соответствуют периодам похолодания MIS – Marine Isotope Stage. Зеленой и оранжевой линиями показано соответствие холодных периодов с интроверсией мтДНК *B. carinata* в *B. turriformis* и *B. dybowskiana* соответственно.

Получены первые результаты исследования теломерных районов хромосом у байкальских планарий, которые характеризуются наличием как карликовых так и гигантских форм и способностью к регенерации. Проанализирована динамика изменения длины теломер в онтогенезе нескольких видов байкальских планарий. Показано, что у видов с небольшим размером тела длина теломер уменьшается с возрастом, в то время

как у червей - гигантов уменьшения не происходит (рис. 23). Эти данные могут быть полезны при решении проблем старения и регенерации.

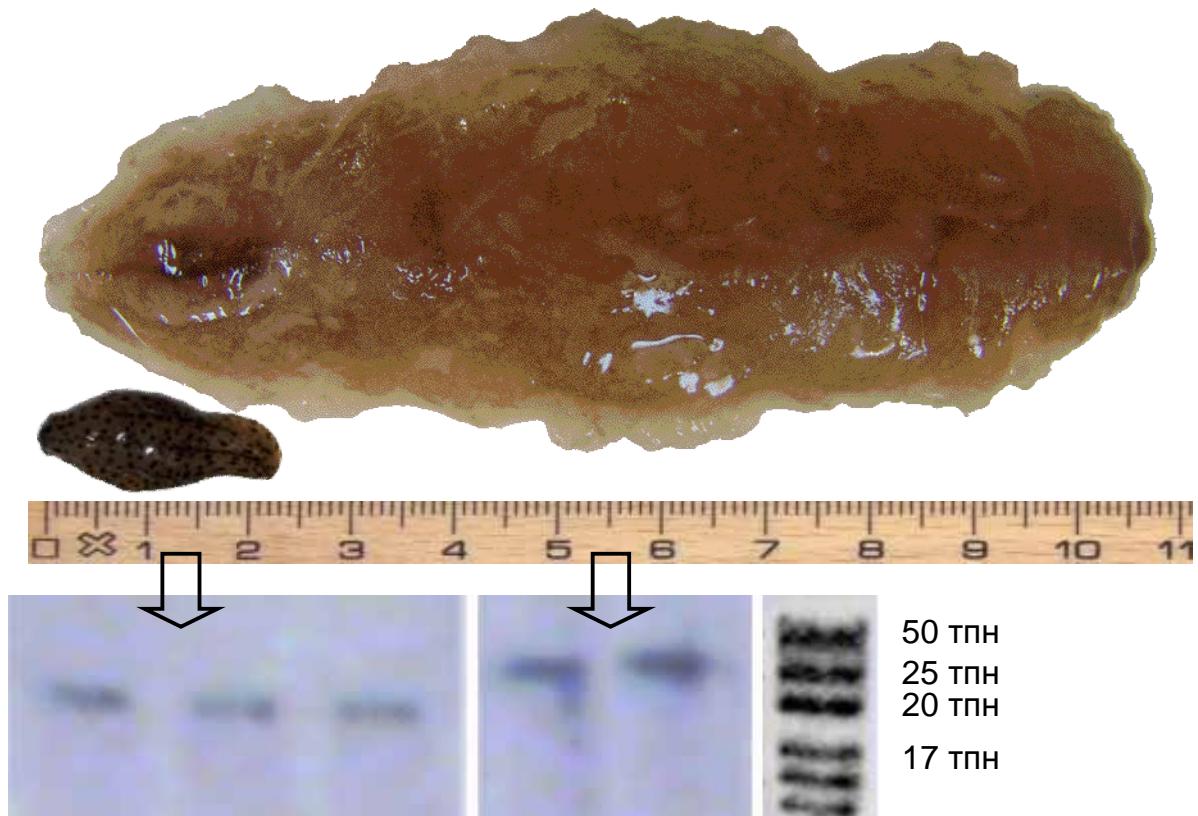


Рис. 23. Размер теломерных районов хромосом планарий Байкала

Исследуется первый этап видообразования, в качестве объектов взяты байкальский омуль *C. migratorius* Georgi и озерный сиг - рыбы, которые имеют небольшие морфологические различия, но различаются размером и местами нереста. Методами полногеномного анализа и с помощью техники вычитающей гибридизации значимых различий между этими видами не выявлено (рис. 24). Транскриптомный анализ однако, выявил существенные различия уровней транскрипции генов нейтрального транскриптома, что может быть связано с различием их поведения. По-видимому, важную роль играют и дифференциально транскрибирующиеся в мозге Tc1-like транспозоны. Расположенные вблизи кодирующих участков генов иммунной системы, стрессового ответа и регуляторных генов, эти мобильные элементы, могут оказывать значительное влияние на их транскрипцию.

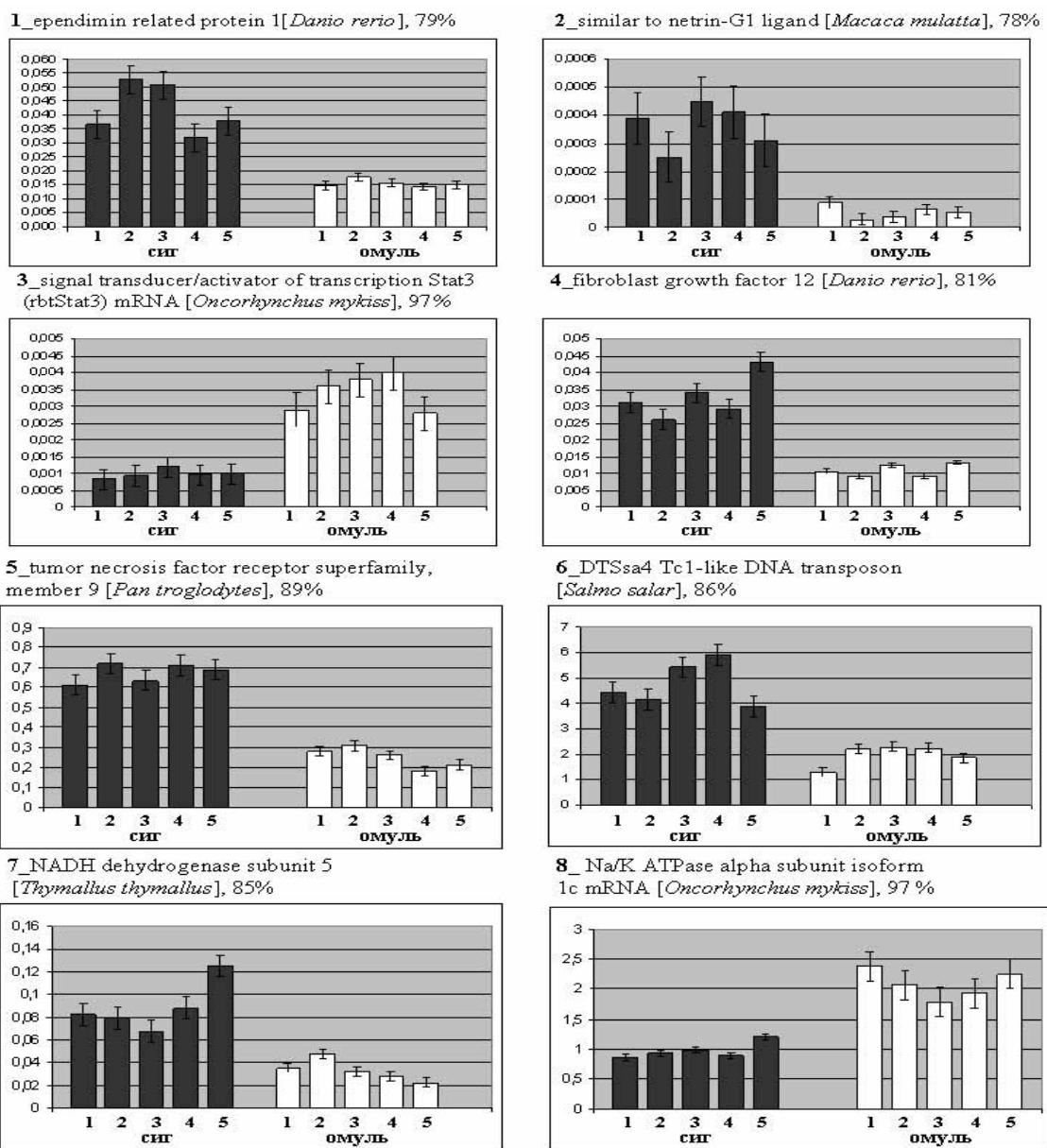


Рис. 24. Подтверждение результатов SAGE анализа транскриптомов мозга байкальских сига и омуля, полученное методом ПЦР в режиме реального времени. Различия в уровне экспрессии показаны для 7 генов на кДНК мозга пяти особей каждого вида. На оси ординат обозначено относительное число транскриптов, нормализованное по GAPDH гену. Для каждой особи представлены усреднённые результаты по 6 независимым экспериментам. % - сходство амплифицируемых фрагментов кДНК сига и омуля с мРНК известных генов.

В зрелых спикулах пресноводной байкальской губки *Lubomirskia baicalensis* идентифицированы два из четырех белков метаболизма кремниевой кислоты - силикатеины  $\alpha 1$  и  $\alpha 2$ , и определены их аминокислотные последовательности методом tandemной MALDI масс-спектроскопии. На рисунке 25 показан результат двумерного электрофореза, идентифицированные силикатеины и, в качестве примера, масс-спектр определения аминокислотной последовательности у одного из триптических пептидов силикатеина  $\alpha 2$ .

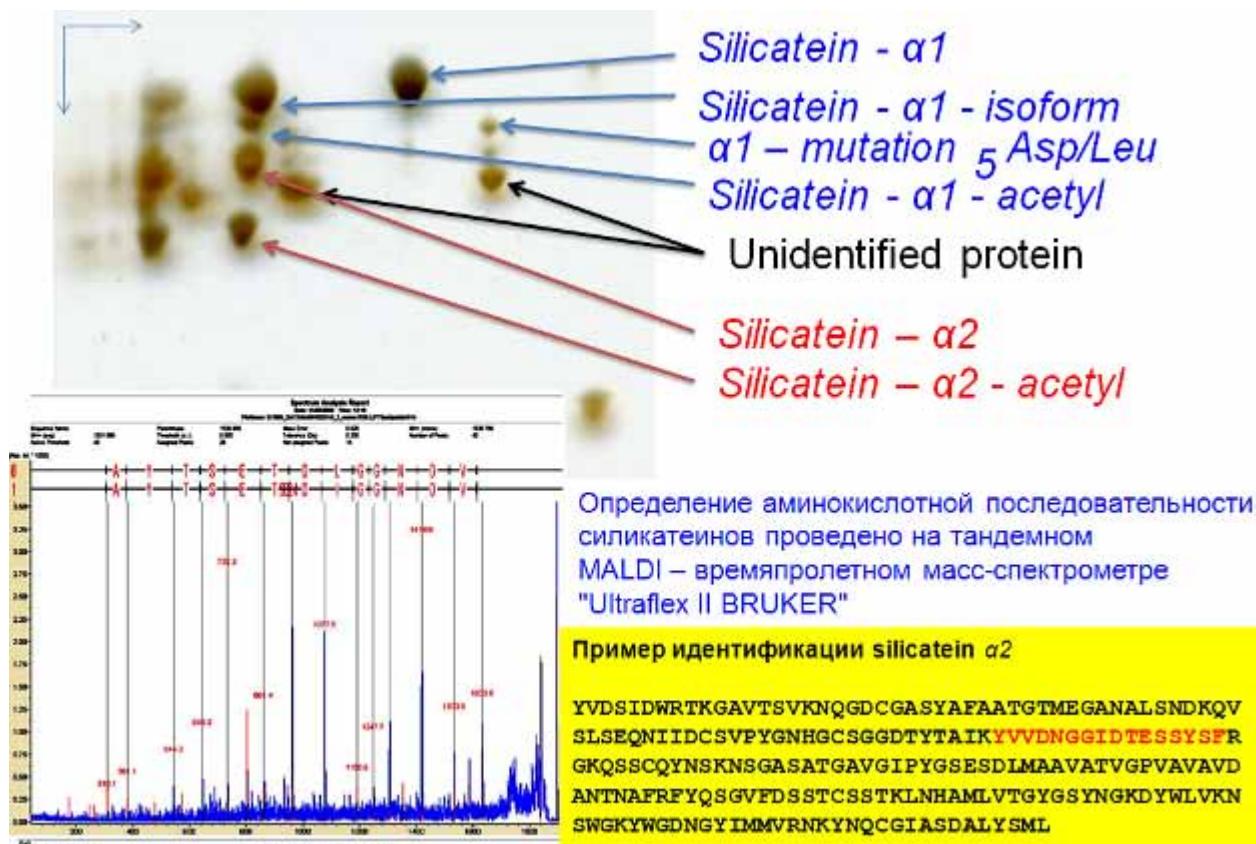


Рис. 25. Результат двумерного электрофореза.

Определены нуклеотидные последовательности трех митохондриальных геномов байкальских губок (рис. 26), принадлежащих к разным родам семейства Lubomirskiidae: *Rezinkovia echinata*, *Swartschewskia papyracea*, *Baikilospongia intermedia* morpha *profundalis* (глубоководная губка), принадлежащих к разным родам семейства Lubomirskiidae. Длина геномов варьирует от 24777 п.н. до 28958 п.н.

Показано, что основные отличия байкальских эндемичных губок от космополитной *Ephydatia muelleri* заключается в наличии у представителей семейства Lubomirskiidae в межгенных районах множества инвертированных и прямых повторов. Наибольшие различия выявлены в самом большом некодирующем районе между генами tRNA-Y – tRNA-M, длина которого варьирует от 450 п.н. у *E. muelleri* до 1000 п.н. у *L. baicalensis*, что связано со вставками в геномы байкальских губок повторов, образующих устойчивые вторичные структуры.

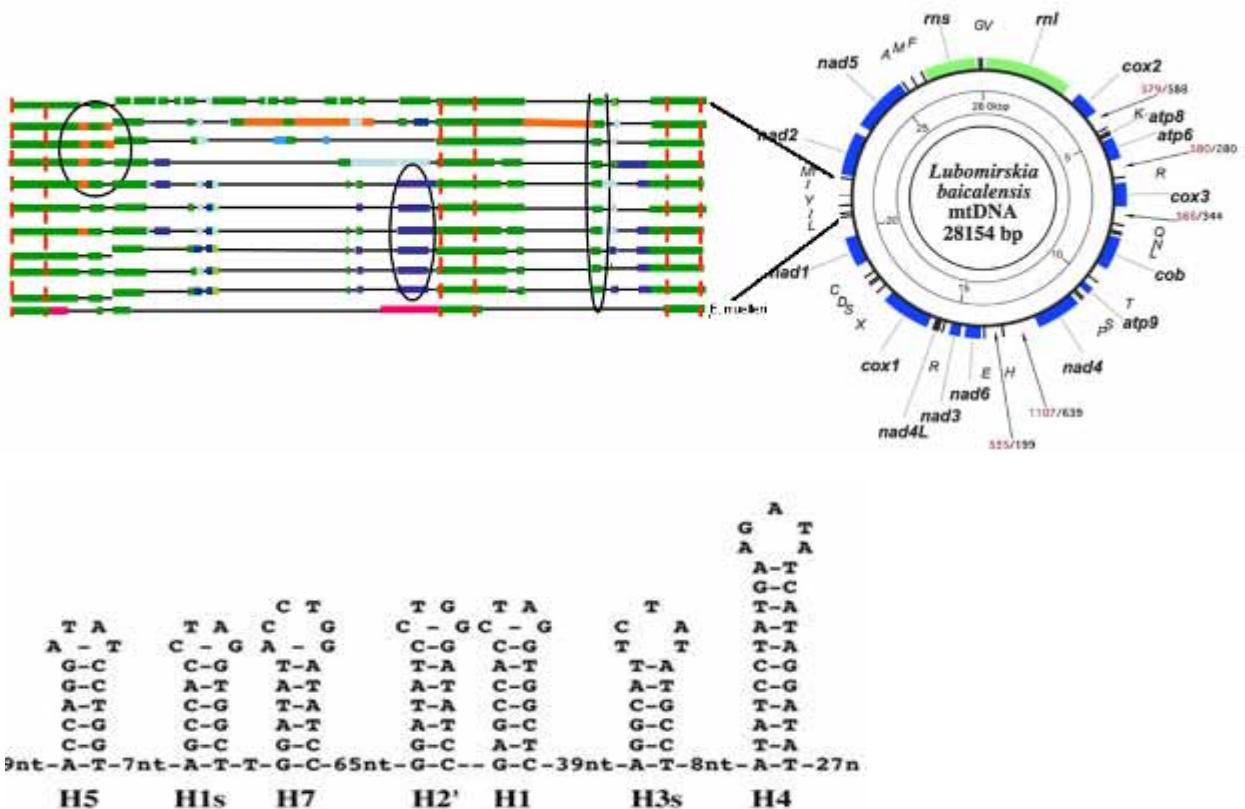


Рис. 26. Показан район между генами tRNA-Y – tRNA-M. Длина района варьирует от 450 п.н. у *E. muelleri* до 1000 п.н. у *L. baicalensis*, что обусловлено наличием повторов, образующих устойчивые вторичные структуры

Проведено секвенирование 30 полных геномов штаммов вируса клещевого энцефалита, выделенных от людей с различной тяжестью заболевания. Показано, что определяющим фактором, обуславливающим различную тяжесть заболевания, является структура вирусного генома, а именно наличие 4 ключевых мутаций (рис. 27). Эти ключевые мутации, понижающие вирулентность штаммов для человека, приводят к делеции 1 аминокислоты в капсидном белке и замене Ser/Phe в неструктурном белке NS3, являющимся вирусной протеазой. Две другие мутации также находятся в неструктурных белках NS1 (Ser/Gly) и NS5 (Ala/Ser).

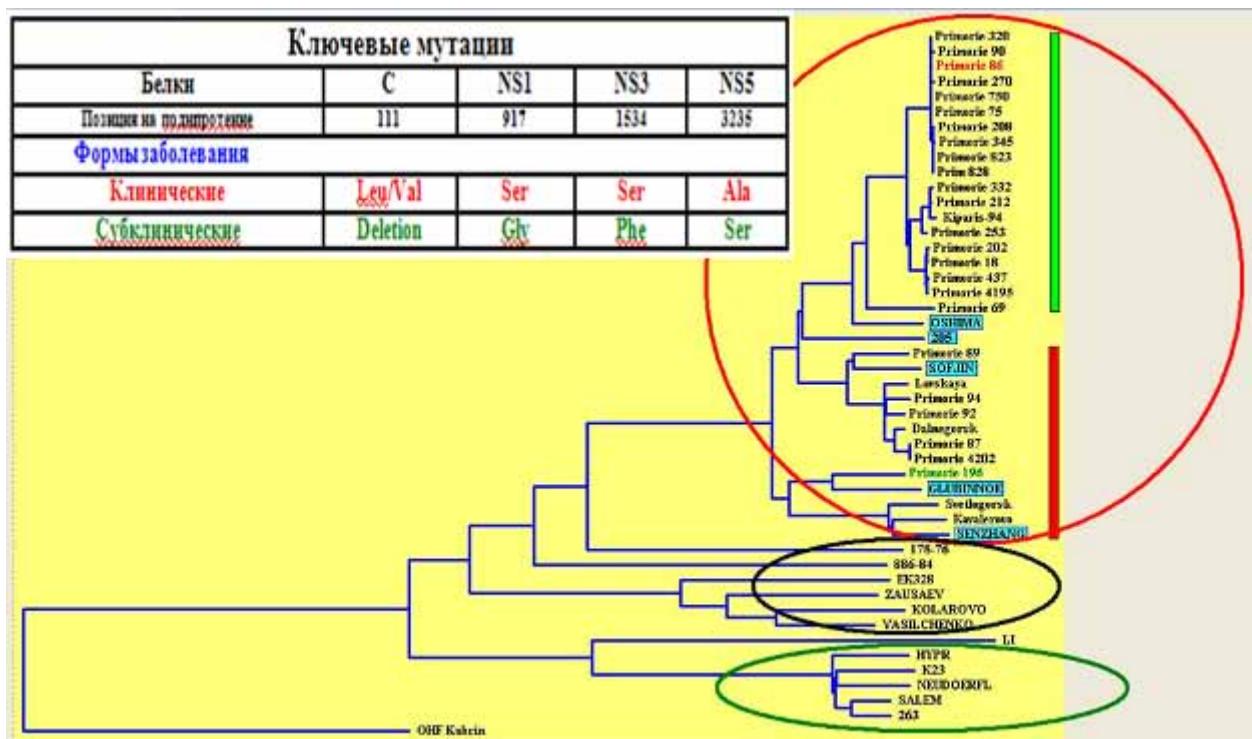


Рис. 27. Филогенетическое древо штаммов вируса клещевого энцефалита, основанное на сравнении полных геномов вируса и ключевые мутации, определяющие различную тяжесть заболевания.

Впервые в экосистеме озера Байкал выявлено новое трофическое звено – планктонные бактериофаги. Обнаружено их большое морфологическое разнообразие, включающее представителей трех семейств *Siphoviridae*, *Podoviridae* и *Myoviridae*. С помощью полногеномного филогенетического анализа выявлено генетическое разнообразие популяции T4-подобных фагов, хозяевами которых являются энтеробактерии и цианобактерии. Наибольшая гомология полученных последовательностей выявлена с фрагментами g23 гена T4-цианофагов и ряда некультивированных T4-бактериофагов из природных образцов других водных биоценозов (рис. 28). Последовательности, близкие g23 генам известных T4-энтерофагов, в воде озера Байкал не выявлены.

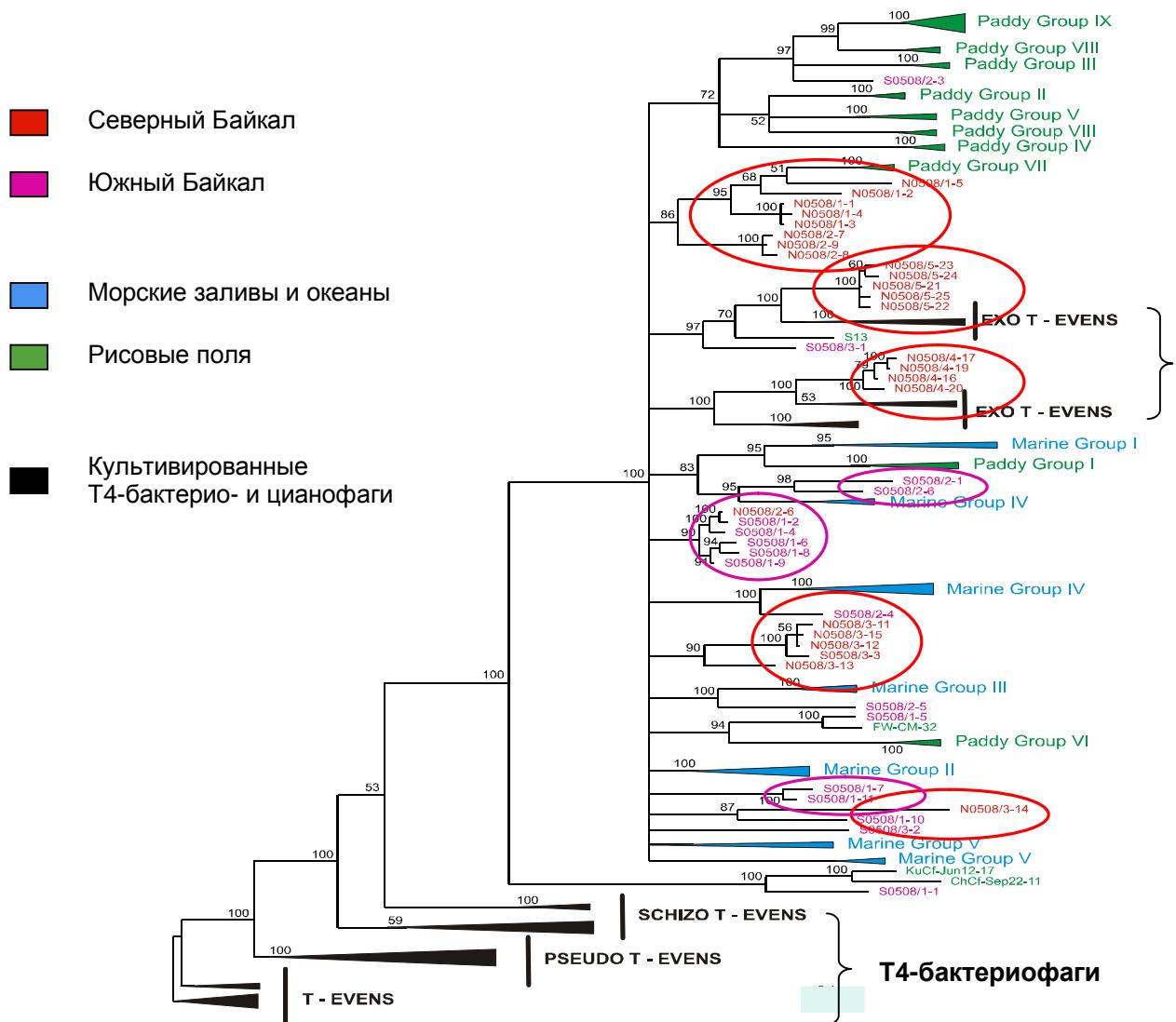
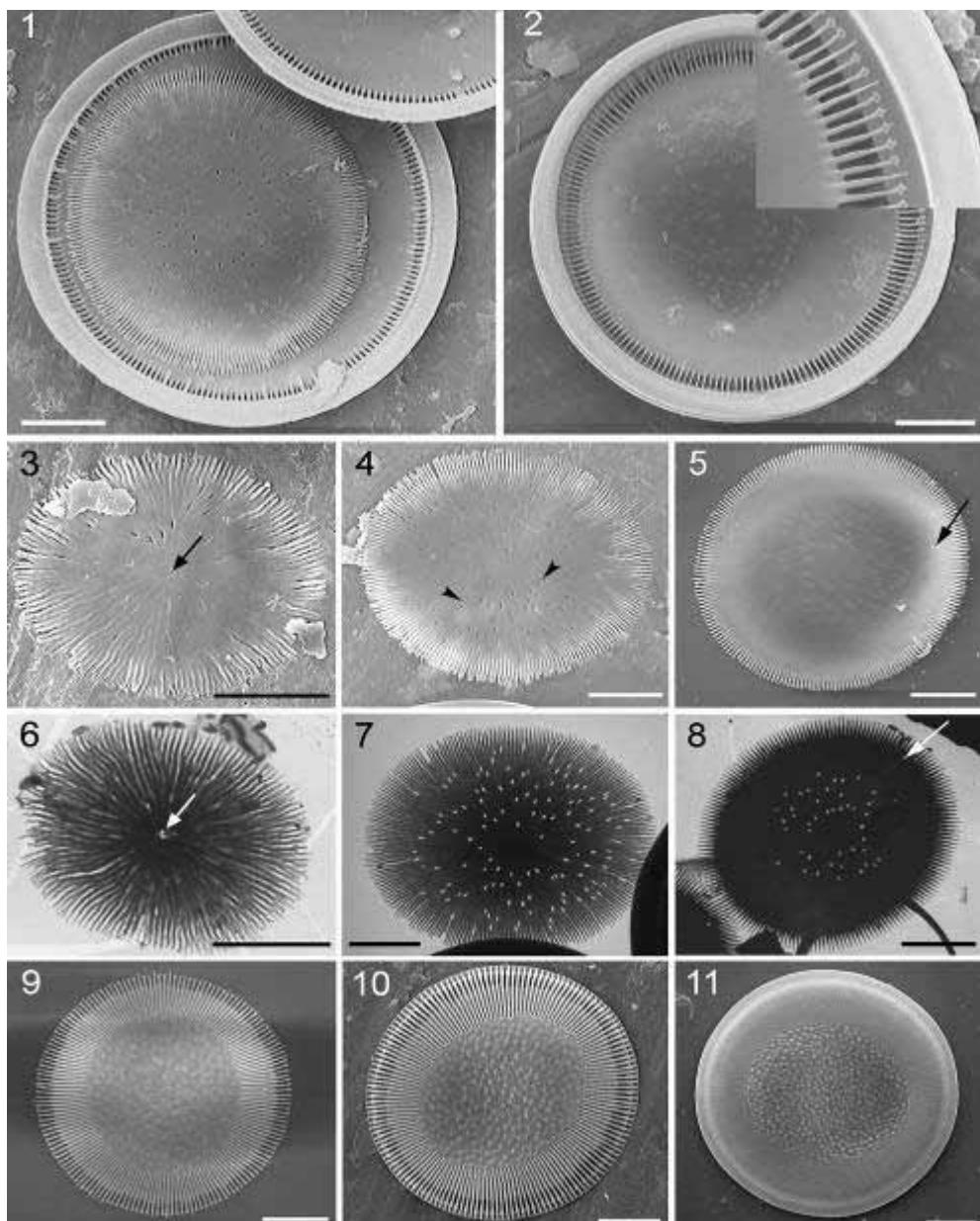


Рис. 28. Филогенетический анализ фрагмента g23 T4-бактериофагов оз. Байкал.

Исследовано строение клетки и морфогенез элементов панцирей нескольких видов пресноводных и морских диатомей, выявлены ранее не описанные особенности в строении хлоропластов. На уровне ультраструктуры исследован онтогенез эндемичной байкальской диатомеи *C. baicalensis* (рис. 29).



*Cyclotella baicalensis.. Рис. 29. 1-5, 9-11 – СЭМ; 6-8 – ТЭМ.*

1, 2. Дочерняя створка, лежащая внутри материнской. 2. Формирующиеся краевые выросты с опорами в виде колечек на концах неутолщенных ребер. 3, 4, 6, 7. Округлая пластинка с радиальными идущими из центра кремнистыми тяжами, которые срастаются в центральной части и разветвляются на дистальном конце. (Стрелки – annulus начало формирования створки, головки стрелок – незаросшие кремнеземом отверстия) 5, 8. Створки на стадии дифференциации на центральную (заросшую кремнеземом) и краевую зону. На границе краевой и центральной части створки отверстие двугубого выроста (стрелка). 9, 10. Створка на стадии формирования краевых выростов с опорами. Вид с наружной стороны. 11. Зрелая створка. Вид с наружной стороны. Масштаб 10 мкм.

Синтезированы новые флуоресцентные красители, производные олигомеров пропиламина. Одно из этих соединений, содержащее два остатка пропиламина, окрашивает у диатомей кремнезем (рис. 30) исключительно в составе везикулы отложения кремнезема (SDV). Второе соединение, содержащее три остатка пропиламина окрашивает не только SDV, но и мелкие кислые везикулы, возможно и те органеллы, в которых кремнезем переносится внутри цитоплазмы. Окрашивание происходит прижизненно, зрелые створки не окрашиваются. Обработка окрашенных диатомей

смесью  $H_2SO_4$ - $H_2O_2$  (рис. 31) не приводит к обесцвечиванию прижизненно окрашенных створок, что говорит о том, что производные пропиламина внедряются в массу отлагаемого кремнезема. Полученные результаты открывают новые возможности для исследования механизмов морфогенеза диатомей.

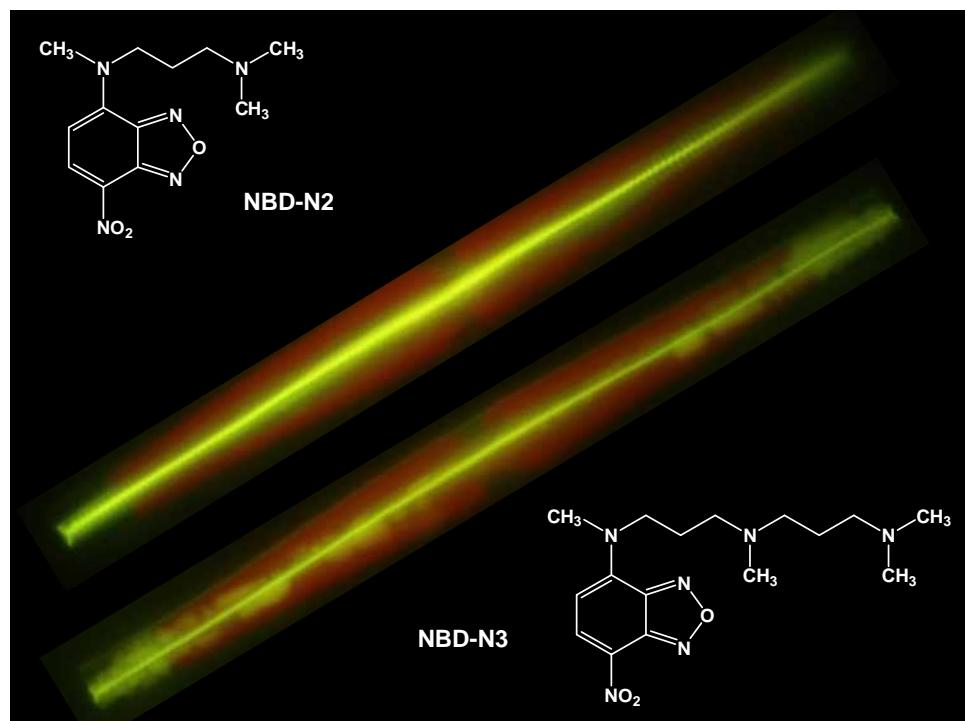


Рис. 30. Два новых флуоресцентных красителя на основе олигопропиламинов и выявление отлагающегося кремнезема (NBD-N2, зеленый цвет, верх) и отлагающегося кремнезема и кислых везикул (NBD-N3, зеленый цвет, низ) при морфогенезе *S. acus*.

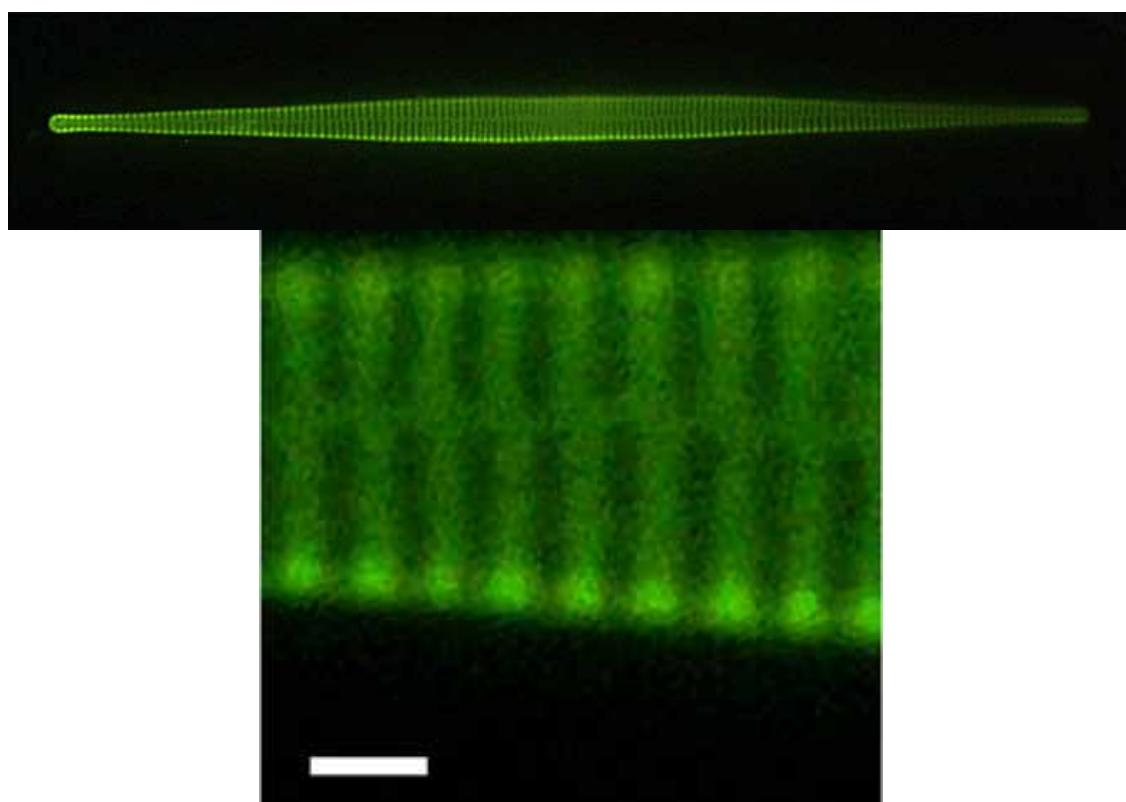


Рис. 31. Кремнистые створки диатомеи *S. acus* после обработки окрашенной биомассы в  $H_2SO_4/H_2O_2$

Методом иммунно-блотинга с использованием антител против 4 синтетических пептидов (рис. 32) мимикрирующих 4 участка SIT *S acus* на электрофорограммах обнаружен SIT с ожидаемой длиной 65 kDa. Аналогичным методом обнаружен аквапорин в *S acus*. Эти методические достижения будут служить основой для последующего исследования механизма отложения кремнезема диатомей.

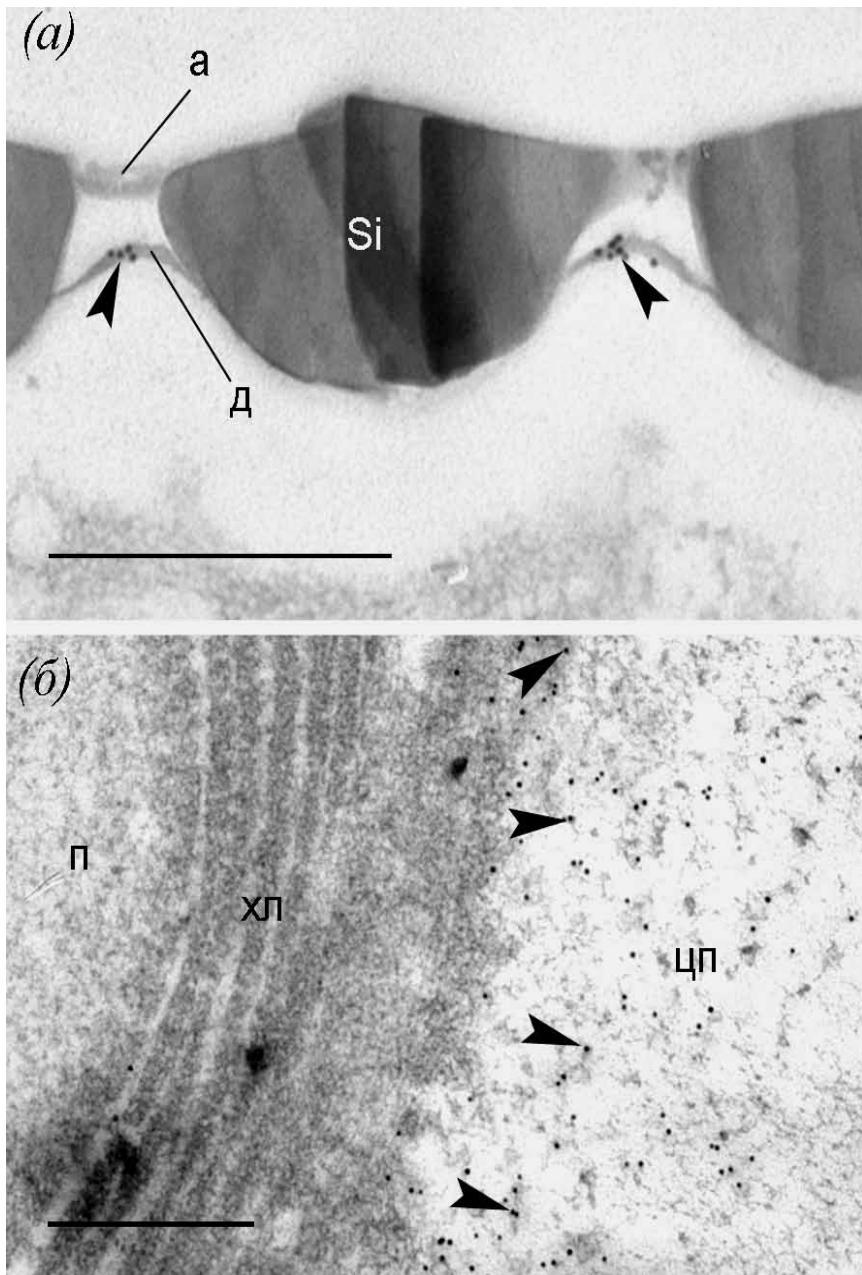


Рис. 32. Визуализация антигенных детерминант белка SIT в клетках диатомовой водоросли *S. acus* методом иммуноэлектронной микроскопии. ТЭМ ультратонких срезов. Комплексы меченного коллоидным золотом белка А с антителами анти-Р1а к белку SIT (обозначены стрелками) обнаруживаются в виде скоплений вблизи ареол (а) и в рассеянном виде в цитоплазме интерфазной клетки (б). а – ареола; д – диатотепум; п – пиреноид; хл – хлоропласт; цп – цитоплазма; Si – кремнистый панцирь. Масштаб – 0.5 мкм.

Высказана гипотеза об участии аквапорина в формировании структуры растущих створок диатомей внутри SDO, суть которой состоит в том, что откачу воды через определенные участки мембранны осуществляют аквапорины, а затем структура кремнезема уплотняется вследствие синерезиса.

Для принципиального расширения возможных подходов к молекулярной биологии диатомей и в частности, для использования методов генной инженерии начата расшифровка полного генома *S. acus* методом пиросеквенирования. Получена аксеническая

лабораторная культура *S. acus*. Методом пиросеквенирования расшифрован полный геном митохондриальной ДНК этой водоросли. Он имеет длину 46 657 bp и содержит 2 гена рРРК, 24 гена тРНК и 33 гена белков (рис. 33). Сравнительный анализ с двумя другими известными митохондриальными геномами диатомей выявил, что при сходном наборе генов их порядок существенно отличается. Показано, что интроны в гене сох1 полифилетичны.

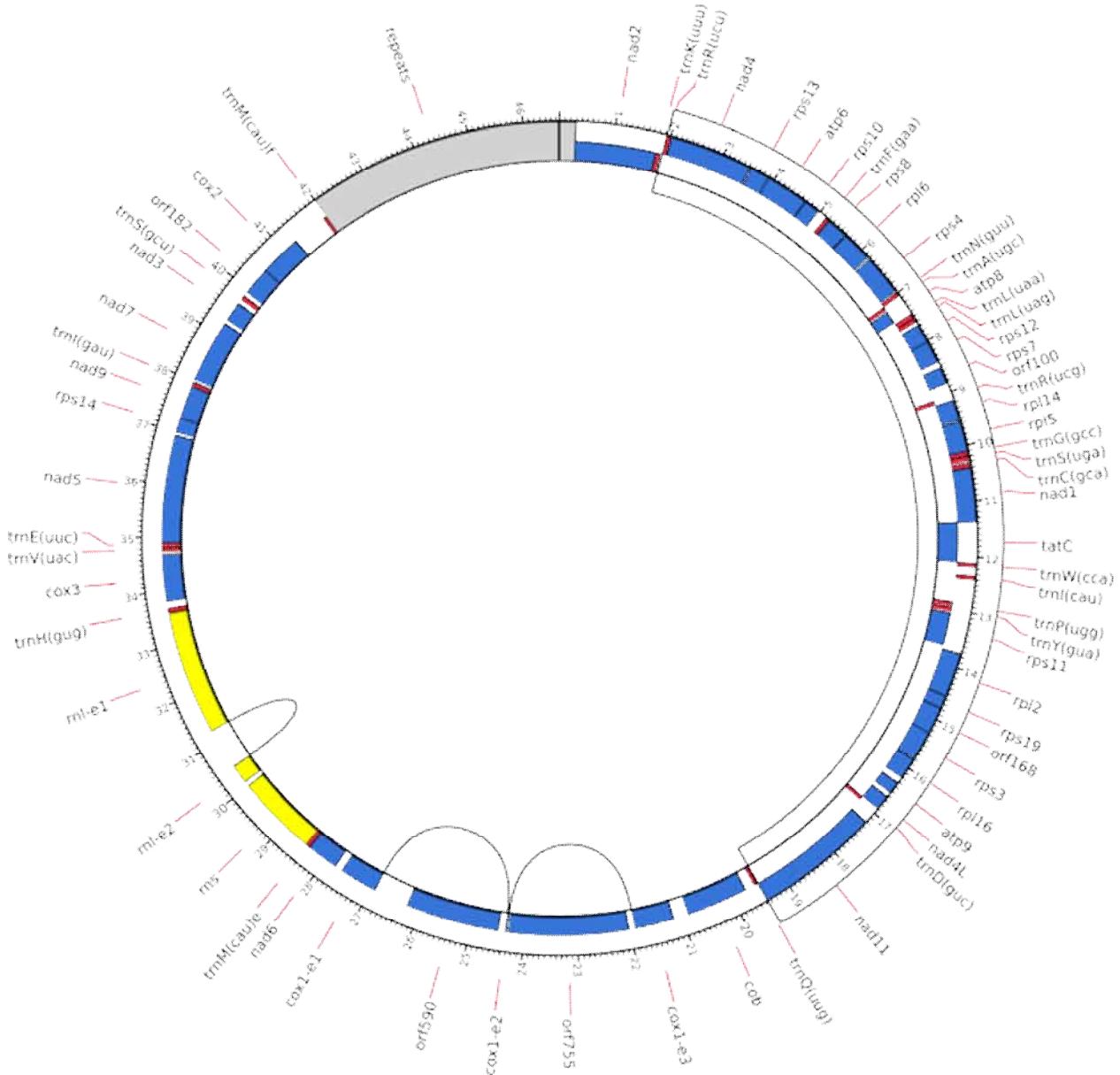


Рис.33. Митохондриальный геном *Synedra acus*. Гены рибосомальных РНК обозначены светло-серыми блоками, гены транспортных РНК — темно-серыми блоками. Гены транспортных РНК содержат в названии однобуквенный код аминокислоты и последовательность антикодона в скобках. Дуги соединяют экзоны инtron-содержащих генов. Гены, расположенные на внешней/внутренней окружностях геномной карты, транскрибируются по/против часовой стрелки, соответственно. Порядок генов в области генома, обведенной в рамку, является одинаковым в митохондриальных геномах диатомей *Synedra acus*, *Thalassiosira pseudonana* и *Phaeodactylum tricornutum*.

В результате BLAST-анализа контигов, полученных в первых раундах пиросеквенирования генома диатомеи *S. acus* обнаружены рамки считывания (1031)

фрагменты которых имеют высокое сходство с эукариотическими генами, осуществляющими метаболизм углеводов, регуляцию репликации и транскрипции, транспорт и метаболизм ионов металлов, посттрансляционные модификации белков, сигнальную трансдукцию, биогенез клеточной стенки и другие функции.

По результатам трех съемок на всей акватории Байкала (2007-2009 гг.) оценено состояние одного из основных компонентов биоты озера - фитопланктона. Весной 2007 г. на большей части акватории озера отмечено массовое развитие *Aulacoseira baicalensis*, суммарная биомасса фитопланктона (более 1 г/м<sup>3</sup>) соответствовала значениям, характерным для высокопродуктивных «мелозирных» лет. 2008 г. характеризовался как высокопродуктивный, за счет массового развития *Syndra acus*, а 2009 г. относился к низкопродуктивным. Таким образом, общая биомасса весеннего фитопланктона Байкала 2007-2009 гг. соизмерима со средними многолетними показателями за период 1946-1990 гг. (Кожев, 1946; Поповская, 2000).

Впервые молекулярно-биологическими методами показано наличие потенциально-патогенных бактерий рода *Enterococcus* не только в литоральной, но и в глубоководной зоне оз. Байкал. Установлено, что сохранение клетки при низкой температуре воды и малом количестве органического вещества происходит путем перехода их в некультивируемое состояние (рис. 34), в результате которого затруднено обнаружение их в воде при проведении традиционного культивирования на диагностических средах. Эти бактерии легко обнаруживаются молекулярными методами (ПЦР и секвенирование). Выявлено, что бактерии рода *Enterococcus* являются устойчивыми к действию гипохлорита кальция, используемого для дезинфекции питьевой воды, в отличие от бактерий р. *Pseudomonas*. В результате модельного эксперимента установлено, что при наличии питательных веществ и концентрации хлора, равных 0.6 мг/л и 0.3 мг/л, клетки энтерококков остаются жизнеспособными даже после 30 минутной обработки. Полученные данные показали, что традиционные способы дезинфекции воды неэффективны по отношению к условно-патогенным энтерококкам.

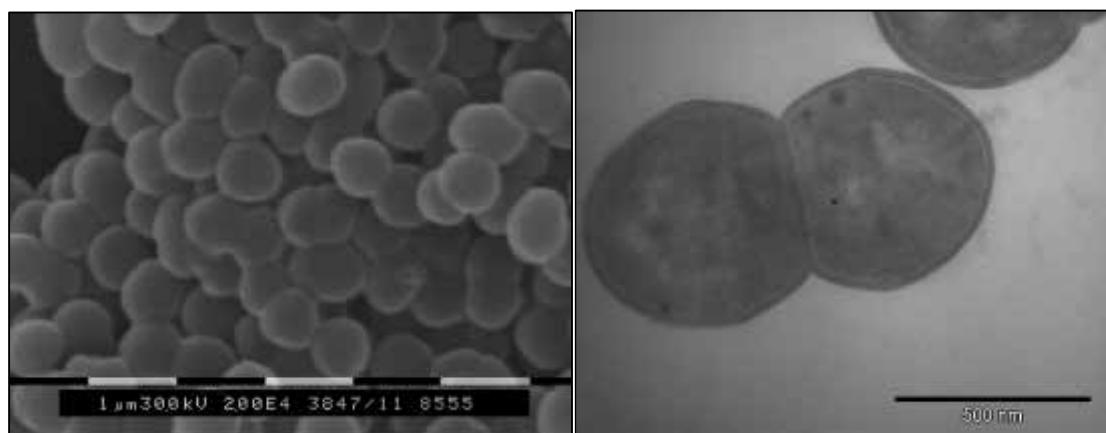


Рис. 34. Бактерии рода *Enterococcus* (сканирующая и трансмиссионная электронная микроскопия).

Институт принимал участие в исследованиях, связанных с поиском причины вспышки Гаффской болезни в районе озера Котокель летом 2008 года. Ранее была выдвинута гипотеза о нескольких ядовитых растениях, как возможной причине токсичности рыбы (Бурундукова, 2005). Установлено, что цикутотоксин не является такой причиной. Одной из гипотез была гипотеза токсичности околоводного хвоща (*Equisetum fluviatile L.*), в связи с чем, проведены токсикологические испытания метанольного экстракта околоводного хвоща *Equisetum fluviatile L.* на мышах. Разделение суммарного экстракта выполнено с использованием препаративного жидкостного хроматографа «Agilent» 1200 Series, с колонкой Zorbax SB-C18 (9,4 × 100 мм, 5 мкм). Выявлена токсичная фракция: мышь, которой вводилась эта фракция, погибла через 8 суток с характерными признаками гаффской болезни: «треугольная» поза, коричневый цвет выделившейся мочи.

По данным масс-спектрометрического анализа (Agilent HP 1200 – времяпролётный масс-спектрометр Agilent 6210 – (ESI)) токсичная фракция содержит 4 мажорных соединения с массами 786,563; 797,585; 802,537 и 1221,335 (рис.35). Поиск токсина продолжается.

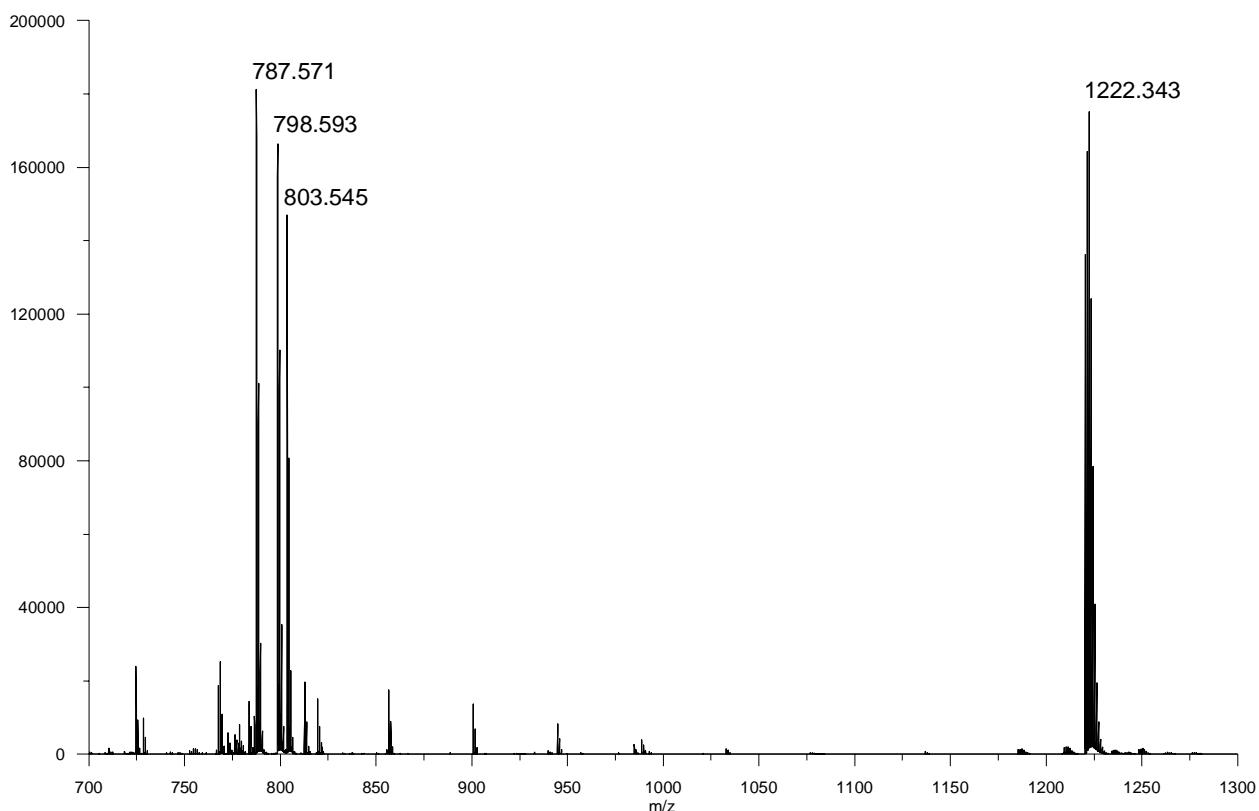


Рис. 35. Масс-спектр токсичной фракции метанольного экстракта хвоща речного *Equisetum fluviatile L.*, собранного на оз. Котокель в августе 2009 года.

Сине-зеленые водоросли вряд ли могли быть причиной Гаффской болезни, поскольку вызывают сильно отличающиеся от Гаффской болезни симптомы (поражение печени).

Проведен поиск микроцистинов в пробах фитопланктона оз. Котокель, отобранных в августе 2009 г., с помощью маркеров к АМТ-домену гена *tcyE*. Фрагменты генов белкового комплекса, осуществляющие синтез микроцистинов были обнаружены в 6 видах синезеленых водорослей. В метанольных экстрактах культур сине-зеленых водорослей обнаружено три различных микроцистина, отметим, что в сине-зеленых озера Байкал гены, кодирующие систему синтеза микроцистинов, не обнаружены., они найдены в сине-зеленых из Братского и Усть-Илимского водохранилищ.

Исследовано содержание ПХБ в мышечной ткани байкальского омуля *Coregonus migratorius* (Georgi, 1775) посольской популяции (1–7 лет). Их среднее значение 30 нг/г мышц до двух раз ниже ПДК. В мышечной ткани рыб старших возрастных групп (от 8 до 12 лет) ПХБ найдены на уровне 50–60 нг/г мышц. За последние 15 лет не отмечено изменения уровней накопления ПХБ в байкальском омуле, которые составляли в 1993 г. (Kucklick, 1996) 35 нг/г мышц (3–10 лет) 80 нг/г мышц (10–13 лет).

Уровни накопления ПХБ в жире байкальской нерпы (рис. 36) в возрасте 1–7 лет оценены в диапазоне 7000–22000 нг/г липидов, т.е. они существенно не изменились за последние 15 лет (10000–26000 нг/г липидов в 1992 г., Nakata, 1997). Средний уровень накопления ПХБ в байкальской нерпе до 13 раз выше, чем в тюленях, обитающих в фоновых районах мира (Арктика), но до 20 раз ниже по сравнению с тюленями Балтийского моря.

Учитывая снижение уровня загрязнения атмосферы Байкальской природной территории ПХБ до 10 раз с 1994 г. и низкое накопление данных соединений в донных отложениях Байкала (0.8–4 нг/г), сравнительно высокие уровни накопления ПХБ в биоте, вероятно, связаны с высокой стабильностью данных соединений, поступивших в водную экосистему озера Байкал за предыдущие годы.

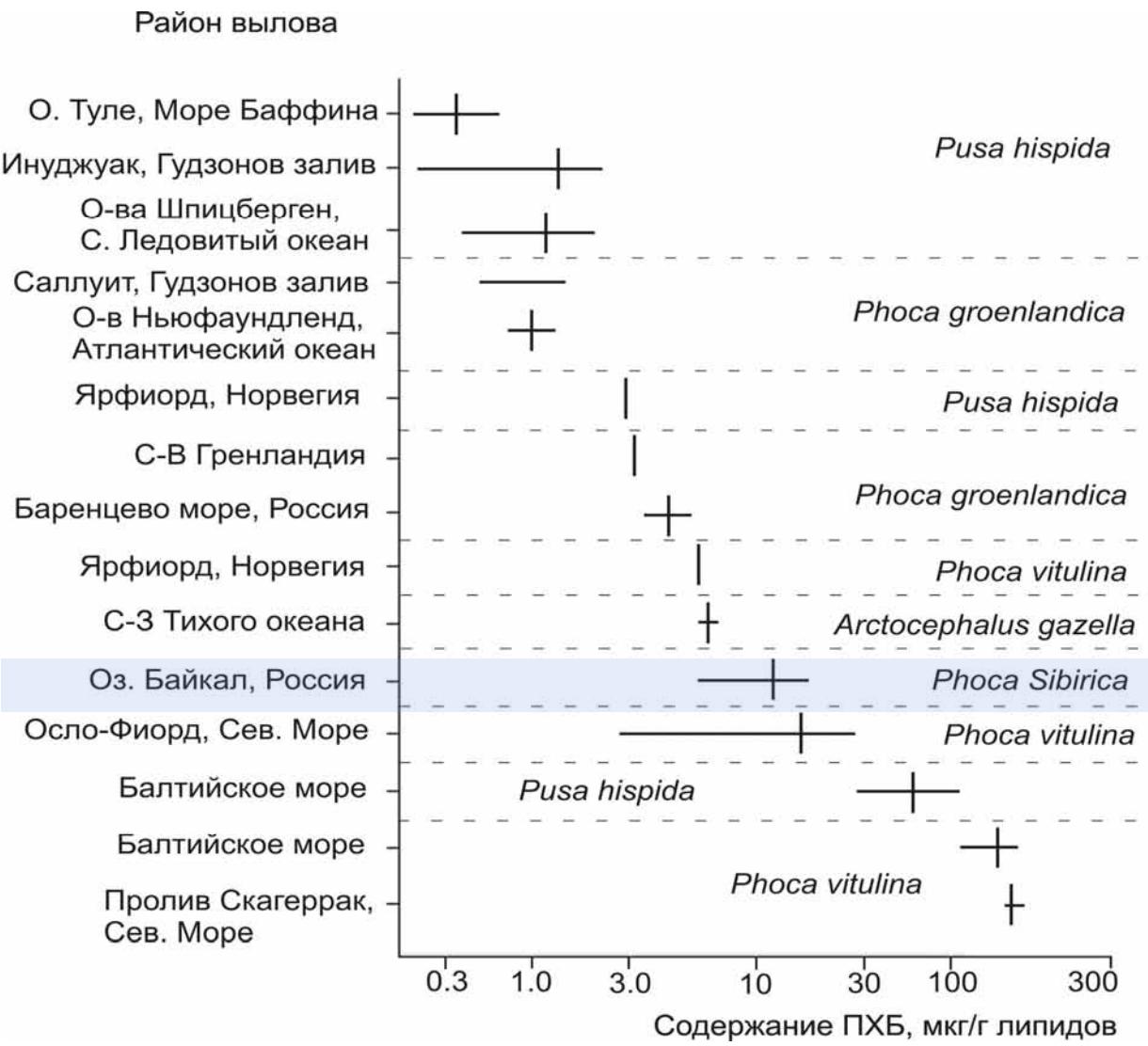


Рис. 36. Современные уровни накопления ПХБ в жире байкальской нерпы и в жире тюленей, обитающих в различных районах мира.

Институт имеет тесные связи с другими научными учреждениями РАН и СО РАН. В отчетный период проводились совместные экспедиционные и экспериментальные исследования со специалистами из институтов СО РАН (ИГМ, ИЗК, ИХКГ, ИОА, ИНГГ, ИГХ, ИНХ, ИДСТУ, ИЦИГ, ИНХ, ИБХФМ, ИВЭП, ИЯФ, ИПРЭК, ИОБ, БИП), РАН (ИО, ЗИН, ИБВВ), ДВГИ ДВО РАН, результаты которых нашли отражение в совместных публикациях.