

Фекальные станола в донных отложениях озера Заповедное (Эвенкия) свидетельствуют о незначительной антропогенной нагрузке в бассейне озера в позднем голоцене

Е. К. СИННЕР^{1, 2}, А. Н. БОЯНДИН², Д. Ю. РОГОЗИН²

¹Сибирский федеральный университет
660041, Красноярск, пр. Свободный, 79

²Институт биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН
660036, Красноярск, Академгородок, 50, стр. 50
E-mail: rogozin@ibp.ru

Статья поступила 15.04.2024

После доработки 13.05.2024

Принята к печати 14.05.2024

АННОТАЦИЯ

В донных отложениях озер сохраняются биомаркеры присутствия животных и человека – фекальные станола. Они образуются из стеролов в результате работы кишечной микрофлоры. Характерными для человека являются копростанол и экикопростанол, поскольку вырабатываются в наибольшем количестве по сравнению с животными. Эти станола используются для реконструкции истории населения водоемов. В данной работе впервые исследованы фекальные станола в донных отложениях оз. Заповедное, расположенного в Эвенкии. Анализ проводился с помощью газового хроматографа с масс-спектрометрическим детектором. По всей длине керна показано отсутствие ярко выраженного сигнала в содержании копростанола и экикопростанола на фоне остальных исследованных станолов, что свидетельствует об исчезающе малом вкладе человека в пул фекальных станолов. Очевидно, что на всем исследованном интервале времени (до 2500 лет назад) в водосборном бассейне озера не было постоянных поселений, что в целом согласуется с крайне низкой плотностью населения данного региона и неблагоприятными условиями для проживания.

Ключевые слова: фекальные станола, 5 β -станола, донные отложения, озеро Заповедное, Эвенкия, голоцен, палеолимнология.

ВВЕДЕНИЕ

Исследование фекальных 5 β -станолов в донных отложениях позволяет получить информацию о ранее живущих в водосборном бассейне озера животных и человека. Фекальные станола образуются в результате деятельности кишечной микрофлоры путем вос-

становления стеролов. Определено, что их концентрации и соотношения различаются у организмов в зависимости от рациона питания, кишечной микрофлоры и метаболизма [Bull et al., 2002]. Копростанол является маркером человеческого присутствия, поскольку у людей он вырабатывается в наибольшем ко-

личестве, в то время как для различных видов животных характерно преобладание других 5 β -станолов [Bull et al., 2001]. Применение фекальных станолов в качестве биомаркера обусловлено их устойчивостью в анаэробных условиях, благодаря чему станолы сохраняются в донных отложениях тысячелетиями [Vachula et al., 2019].

Работа в данном направлении уже показала перспективы анализа донных отложений на 5 β -станолы в качестве индикатора присутствия человека и животных [D'Anjou et al., 2012; Hargan et al., 2018; Harrault et al., 2019; White et al., 2019; Raposeiro et al., 2021].

В донных отложениях оз. Шира (юг Сибири, Хакасия) повышение доли копростанола с эпикопростанолом относительно 5 α -холестанола и холестерина соотносилось с историческими событиями, связанными с увеличением численности людей в водосборном бассейне озера [Синнер и др., 2024].

В других районах Средней Сибири подобные исследования до настоящего времени не проводились. В данной работе мы исследовали донные отложения труднодоступного оз. Заповедное, расположенного в малонаселенной таежной местности в южной части Эвенкийского района Красноярского края.

ОПИСАНИЕ ОБЪЕКТА

Озеро Заповедное (60°31.688' с. ш., 101°43.740' в. д.) расположено на Центрально-Тунгусском плато в южной части Эвенкийского муниципального района Красноярского края, на границе территории Государственного природного заповедника "Тунгусский", в 60 км к северо-западу от ближайшего населенного пункта пос. Ванавара и приблизительно в 70 км к югу от предполагаемого эпицентра Тунгусского взрыва 1908 г. [Рогозин и др., 2023]. Котловина озера находится в долине небольшой р. Верхняя Лакура, притока крупной р. Подкаменная Тунгуска, впадающей в р. Енисей.

Озеро Заповедное имеет почти круглую форму, диаметр около 500 м, максимальную глубину 60,3 м в точке (60°31.688' с. ш., 101°43.740' в. д., данные 2022 г.), расположенной вблизи геометрического центра водоема, ближе к восточному берегу. Дно озера имеет форму правильной конической воронки, если

не считать мелководную прибрежную зону. С северо-западной оконечности в озеро впадает р. Верхняя Лакура, она же вытекает из него с юга [Рогозин и др., 2023].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Керн донных отложений длиной 130 см был отобран 17 сентября 2022 г. в центральной глубоководной части оз. Заповедное вблизи точки с координатами 60°31.699' с. ш. 101°43.648' в. д. Донные отложения взяты с ледовой поверхности через отверстие во льду с помощью гравитационного пробоотборника UWITEC (Австрия) со съемной пластиковой трубой диаметром 90 мм. После извлечения керн разрезали вдоль и делили на две равные продольные "D-секции", затем одна половина материала ("D-секция") разделялась на поперечные образцы (слайсы) с шагом 10 мм. Слайсы помещали в герметичные полиэтиленовые пакеты и хранили в темноте при -20 °C.

Возрастная модель строилась на основе распределений активности изотопов ¹³⁷Cs, ²¹⁰Pb, ¹⁴C, измеренных в керне, отобранном в 2015 г. этим же оборудованием в этой же точке [Rogozin et al., 2022].

Донные отложения высушивали методом лиофилизации с их предварительной заморозкой при -80 °C. Экстракция стероидов проводилась в плотно закрытых плоскодонных колбах объемом 100 мл при температуре 25 °C. К навеске 2 г сухого вещества добавляли 30 мл смеси этанол: хлороформ (объемное соотношение 3 : 7). Через 24 ч полученные экстракты фильтровали на фильтре Шотта (размер пор 16) в круглодонные колбы, экстракты и фильтр дополнительно дважды промывали растворителем по 5 мл. Растворители удаляли отгонкой на ротационном испарителе, после чего колбы с сухими экстрактами дополнительно выдерживали в эксикаторе в течение 6 ч.

Для пробоподготовки использовалась модифицированная методика [Andaluri et al., 2017], основанная на получении триметилсилильных производных стероидов, имеющих в своем составе гидроксильные группы. Стероиды, имеющие только кето-группы, в этих условиях не изменяются. К образцу добавляли 200 мкл силилирующего агента (смесь 99 % N, О-бис (триметилсилил)трифторацетамида и 1 %

триметилхлорсилана) и 200 мкл пиридина, после чего выдерживали в сушильной камере при 55 °С в течение 20 мин. Затем добавляли еще 200 мкл силирующего агента, выдерживая еще 20 минут при 55 °С. Остатки силирующего агента и пиридина удаляли выпариванием при температуре 100 °С. К сухому остатку добавляли 200 мкл додекана, выдерживали смесь в течение получаса, после чего переносили додекановую фракцию в вials для хроматографии.

Для идентификации станолов и расчета концентраций использовали внешние стандарты копростанола (5 β -холестан-3 β -ол, производство EFEBIO, Китай), экикопростанола (5 β -холестан-3 α -ол, USP, США), 5 α -холестанола (5 α -холестан-3 β -ол, Roth, Германия), 5 α -холестанона (5 α -холестан-3-он, AlfaAesar, Великобритания) и холестерина (HPC Standards GmbH, Германия). Навески указанных соединений с массой от 1 до 3 мг, определенной с точностью до 0,01 мг, подвергали силированию по той же методике, что и опытные образцы, растворяя затем в додекане до концентрации 1 мг/мл и смешивая для получения многокомпонентных стандартов с концентрацией компонентов 0,1, 0,01 и 0,001 мг/мл.

Анализ силированных производных станолов проводили на газовом хроматографе Agilent 6890N с масс-спектрометром Agilent 5975C, используя колонку Agilent VF-200ms (длина 60 м, внутренний диаметр 250 мкм, толщина пленки неподвижной фазы 0,10 мкм, состав сорбирующего слоя – политрифторпропилметилсилоксан). Для управления прибором использовалось программное обеспечение MSD Chemstation версии E.02.02.1431. В качестве газа-носителя применялся гелий при скорости потока 1,0 мл/мин; проба вводилась в количестве 1 мкл с разделением потока 30 : 1. Температуры устройства ввода и интерфейса были установлены на 250 и 230 °С соответственно. Температурный режим работы печи: 100 °С в течение 4 мин; нагрев до 265 °С при скорости 10 °С/мин, выдержка температуры в течение 8 мин; нагрев до 300 °С при скорости 5 °С/мин; нагрев до 310 °С при скорости 20 °С/мин. Для ионизации образцов применяли электронный удар (70 эВ). Использовалось два режима регистрации масс-спектров. Для первоначальной идентификации соединений и их времени выхода

в образцах внешних стандартов регистрировали масс-спектры в диапазоне m/z от 15 до 500. Для построения калибровочных кривых с помощью внешних стандартов и определения концентраций станолов в пробах селективно регистрировались ионы, характерные для идентифицируемых соединений, с m/z 368 (для триметилсилил-холестерола), 370 (для триметилсилил-копростанола и триметилсилил-экикопростанола), 386 (для холестанола) и 445 (для триметилсилил-холестанола).

Содержание органического вещества в донных отложениях оценивали по потере веса высушенных образцов при прокаливании при 550 °С (loss on ignition, LOI₅₅₀) в течение 4 ч [Santisteban et al., 2004].

Для сравнительной оценки состава стеролов и относительного вклада человека использовались индексы R_1 [Bull et al., 1999] и R_2 . Отношение копростанол/холестерол, которое являлось основой для индекса R_2 , рассматривалось в работе [Takada et al., 1994]. Однако для компенсации эффекта раннего диагенеза в индексе R_2 рассматривается сумма копростанола с экикопростанолом (по аналогии с R_1), который является продуктом диагенетической трансформации копростанола [Bull et al., 1999]:

$$R_1 = (copr + epicopr)/(copr + epicopr + chol-a),$$

$$R_2 = (copr + epicopr)/(copr + epicopr + chol-e),$$

где *copr*, *epicopr*, *chol-a*, *chol-e* – содержание копростанола, экикопростанола, 5 α -холестанола и холестерина соответственно.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В донных отложениях оз. Заповедное определено наличие копростанола, экикопростанола, 5 α -холестанола, 5 α -холестанона и холестерина, и оценено их содержание (рис. 1).

Концентрация копростанола на органическое вещество колеблется в диапазоне 0,0008–0,1219 мкг/г, экикопростанола – 0,0032–0,0846 мкг/г, холестерина – 0,0838–3,2113 мкг/г, 5 α -холестанола – 0,0169–2,2950 мкг/г, и 5 α -холестанона – 0,0096–0,2555 мкг/г.

Профили станолов схожи тем, что с глубиной отложений концентрации станолов и холестерина уменьшаются, что может свидетельствовать об их деградации со временем.

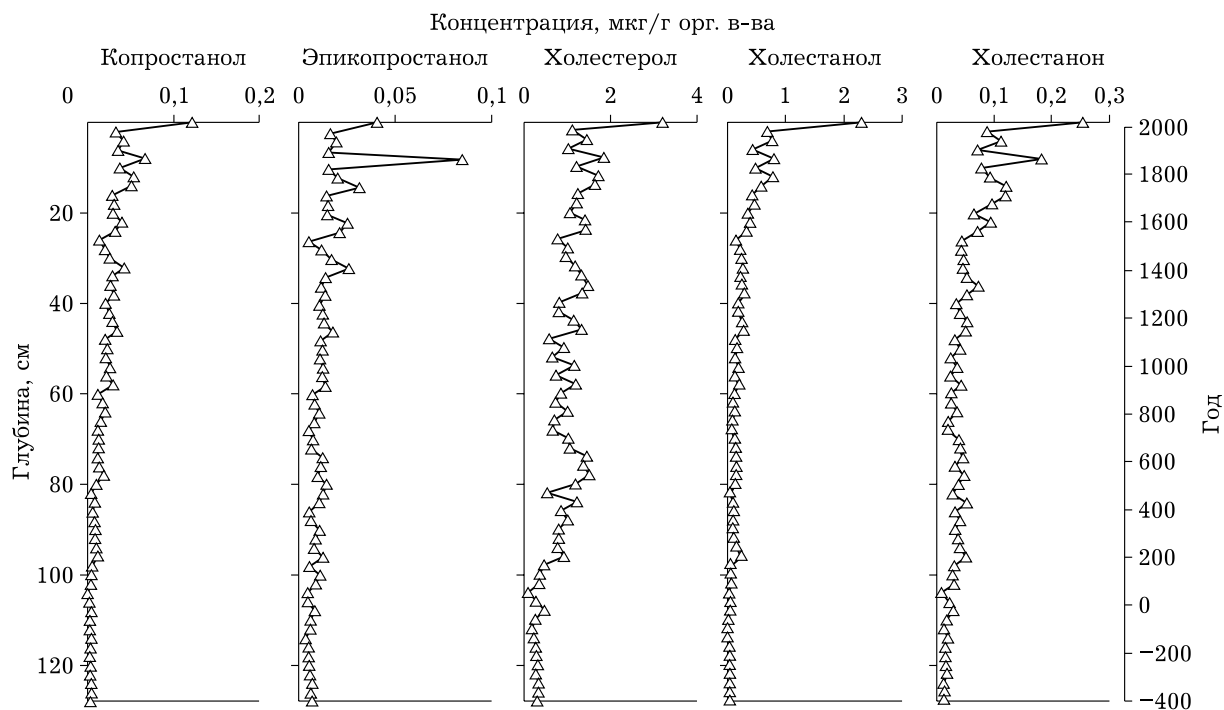


Рис. 1. Содержание станолов в донных отложениях оз. Заповедное

Индекс R_1 , отражающий долю копростанола и эпикопростанола относительно их суммы с 5 α -холестанолом, увеличивался по глубине

отложений, однако подобного увеличения их доли по отношению к их сумме с холестеролом (R_2) не наблюдается (рис. 2). Это озна-

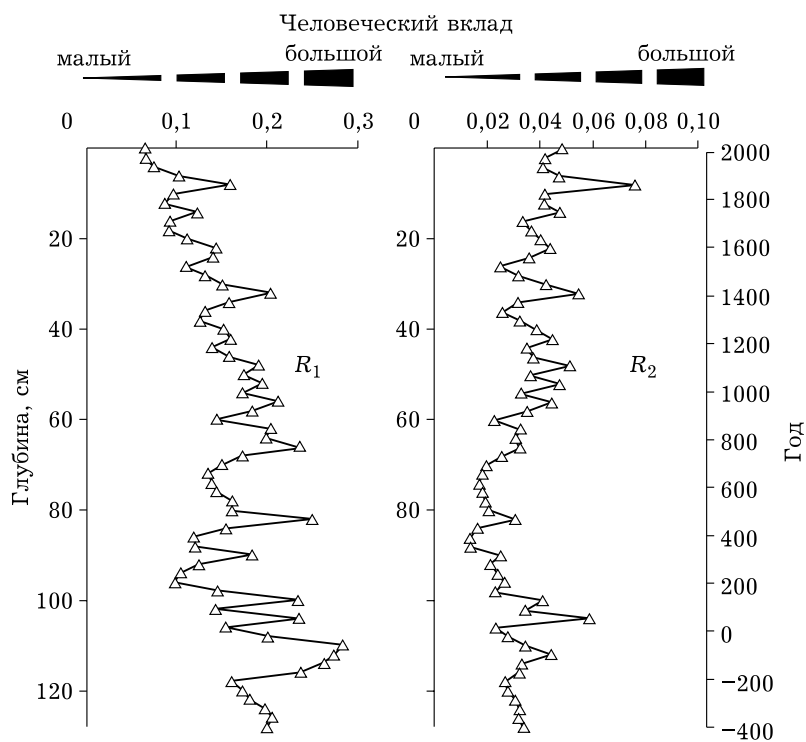


Рис. 2. Индексы R_1 и R_2 , отражающие относительное содержание станолов в донных отложениях оз. Заповедное

чает, что антропогенная фекальная нагрузка на оз. Заповедное практически пренебрежимо мала. Небольшие концентрации станолов могут быть обусловлены вкладом животных, обитающих в водосборном бассейне озера. А увеличение значения индекса R_1 может свидетельствовать о возможной деградации 5 α -холестанола.

ОБСУЖДЕНИЕ

В донных отложениях оз. Заповедное обнаружены биомаркеры человеческого присутствия (копростанол и эпикопростанол), однако их доля по отношению к другим станолом не позволяет предположить их антропогенное происхождение. Вероятно, основными источниками поступления копростанола и эпикопростанола в Заповедном являются животные.

Полученные результаты для современного периода объясняются отсутствием около озера населенных пунктов, а люди из ближайшего пос. Ванавара, расположенного в 60 км от Заповедного, вероятно, не вносят вклад в долю копростанола и эпикопростанола. Также вероятно, что в более ранние времена около водосборного бассейна Заповедного отсутствовали постоянные поселения. Исследованное нами ранее оз. Шира, в отличие от Заповедного, расположено в местности с благоприятным климатом, и в его окрестности на протяжении тысячелетий присутствовали люди, что и отразилось на распределении копростанола [Синнер и др., 2024]. В отличие от окрестностей оз. Шира, суровые климатические условия и таежный ландшафт в окрестности оз. Заповедное не способствуют активной хозяйственной деятельности, и такая же ситуация, очевидно, была здесь и на протяжении последних 2500 лет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данная работа является продолжением работы над анализом содержания фекальных станолов на территории Средней Сибири. Нами впервые проведена оценка состава и содержания фекальных станолов в отложениях оз. Заповедное и получены биохимические свидетельства отсутствия антропогенного влияния на водосборный бассейн озера на протяжении последних около 2500 лет.

Благодарности

Авторы благодарны сотруднику Института биофизики СО РАН Владимиру Зыкову за помощь в анализе органического вещества в донных отложениях, а также сотрудникам Государственного природного заповедника “Тунгусский” Артуру Мейдусу и Олегу Чернышеву и сотруднику Института геологии и минералогии им. Соболева СО РАН Андрею Дарьину за помощь во время полевых работ. Также авторы признательны анонимному рецензенту за ценные замечания.

Вклад авторов

Синнер Е. К. – анализ станолов, обработка данных, написание статьи; Бояндин А. Н. – анализ станолов, обработка данных; Rogozin D. Yu. – общий дизайн исследования, постановка задачи, отбор проб, обработка всех данных, написание статьи.

Финансирование работы:

Исследование выполнено за счет средств Российского научного фонда, грант № 22-17-00185, <https://rscf.ru/project/22-17-00185/>

Соблюдение этических стандартов

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Рогозин Д. Ю., Крылов П. С., Даутов А. Н., Дарьин А. В., Калугин И. А., Мейдус А. В., Дегерменджи А. Г. Морфология озер Центрально-Тунгусского плато (Красноярский край, Эвенкия): новые сведения по проблеме Тунгусской катастрофы 1908 года // Докл. РАН. Науки о Земле. 2023. Т. 510, № 1. С. 81–85. doi: 10.31857/S2686739722602861
- Синнер Е. К., Бояндин А. Н., Рогозин Д. Ю. Станолы в донных отложениях озера Шира (юг Сибири) как палеоиндикатор фекальных поступлений в озеро в позднем голоцене // Сиб. экол. журн. 2024. Т. 31, № 2. С. 200–207. doi: 10.15372/SEJ20240202
- [Sinner E. K., Boyandin A. N., Rogozin D. Yu. Stanols in the Sediments of Lake Shira (Southern Siberia) as an Indicator of Fecal Influx into the Lake in the Late Holocene // Contemporary Problems of Ecology. 2024. Vol. 17, N 2. P. 186–191. doi: 10.1134/S1995425524020124]
- Andaluri G., Suri R. P. S., Graham K. Steroid hormones in environmental matrices: extraction method comparison // Environ. Monitor. and Assess. 2017. Vol. 12 (189). doi: 10.1007/s10661-017-6345-0
- Bull I. D., Betancourt P. P., Evershed R. P. An Organic Geochemical Investigation of the Practice of Manuring at a Minoan Site on Psira Island, Crete // Geoarchaeology – An Int. J. 2001. N 2 (16). С. 223–242.
- Bull I. D., Lockheart M. J., Elhmmali M. M., Roberts D. J., Evershed R. P. The origin of faeces by means of bi-

- omarker detection // *Environ. Int.* 2002. Vol. 27, N 8. P. 647–654. doi: 10.1016/s0160-4120(01)00124-6
- Bull I. D., Simpson I. A., van Bergen P. F., Evershed R. P. Muck “n” molecules: organic geochemical methods for detecting ancient manuring // *Antiquity*. 1999. N 279 (73). P. 86–96. doi: 10.1017/S0003598X0008786X.
- D'Anjou R. M., Bradley R. S., Balascio N. L., Finkelstein D. B. Climate impacts on human settlement and agricultural activities in northern Norway revealed through sediment biogeochemistry // *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 2012. Dec 11. Vol. 109, N 50. P. 20332–20337. doi: 10.1073/pnas.1212730109
- Hargan K. E., Emily M., Stewart E. M., Michelutti N., Grooms C., Kimpe L. E., Mallory M. L., Smol J. P., Blais J. M. Sterols and stanols as novel tracers of waterbird population dynamics in freshwater ponds // *Proc. Royal Soc. B.* 2018. Vol. 285. 20180631. doi: 10.1098/rspb.2018.0631
- Harrault L., Milek K., Jardé E., Jeanneau L., Derrien M., Anderson D. G. Faecal biomarkers can distinguish specific mammalian species in modern and past environments // *PLoS ONE*. 2019. N 2 (14). C. 1–26. doi: 10.1371/journal.pone.0211119
- Raposeiro P. M., Hernández A., Pla-Rabes S., Gonçalves V., Bao R., Sáez A., Shanahan T., Benavente M., de Boer E. J., Richter N., Gordon V., Marques H., Sousa P. M., Souto M., Matias M. G., Aguiar N., Pereira C., Ritter C., Rubio M. J., Salcedo M., Vázquez-Loureiro D., Margalef O., Amaral-Zettler L. A., Costa A. C., Huang Y., van Leeuwen J. F. N., Masqué P., Prego R., Ruiz-Fernández A. C., Sanchez-Cabeza J. A., Trigo R., Giralte S. Climate change facilitated the early colonization of the Azores Archipelago during medieval times // *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 2021. N 41 (118). C. 1–7. doi: 10.1073/pnas.2108236118
- Rogozin D. Yu., Bolobanshchikova G. N., Burdin L. A., Meydus A. V. Macroparticle Charcoal in Lake Sediments of the Central Tunguska Plateau (Siberia, Evenkia) as an Indicator of Forest Fires and a Possible Trace of the Tunguska Event of 1908 // *Contemporary Problems of Ecology*. 2022. Vol. 15, N 4. P. 337–344. doi: 10.1134/S1995425522040096
- Santisteban J. I., Mediavilla R., Lopez-Pamo E., Dabrio C. J., Ruiz Zapata M. B., Gil Garcia M. J., Castano S., Martinez-Alfaro P. E. Loss on ignition: qualitative or quantitative method for organic matter and carbonate mineral content in sediments? // *J. Paleolimnol.* 2004. Vol. 32. P. 287–299. doi: 10.1023/B: JOPL.0000042999.30131.5b
- Takada H., Farrington J. W., Bothner M. H., Johnson C. G., Tripp B. W. Transport of Sludge-Derived Organic Pollutants to Deep-Sea Sediments at Deep Water Dump Site 106 // *Environmen. Sci. Technol.* 1994. Vol. 6, N 28. P. 1062–1072. doi: 10.1021/es00055a015
- Vachula R. S., Huang Y., Longo W. L., Dee S. G., Daniels W. C., Russell J. M. Evidence of Ice Age humans in eastern Beringia suggests early migration to North America // *Quater. Sci. Rev.* 2019. Vol. 205. P. 35–44. doi: 10.1016/j.quascirev.2018.12.003
- White A. J., Stevens L. R., Lorenzi V., Samuel E., Munoz S. E., Schroeder S., Cao A., Bogdanovich T. Fecal stanols show simultaneous flooding and seasonal precipitation change correlate with Cahokia's population decline // *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 2019. Mar 19. Vol. 116, N 12. P. 5461–5466. doi: 10.1073/pnas.1809400116

Fecal stanols in the bottom sediments of Lake Zapovednoe (Evenkia) indicate an insignificant anthropogenic load in the lake basin in the late Holocene

E. K. SINNER¹, A. N. BOYANDIN², D. YU. ROGOZIN²

¹*Siberian Federal University
79, Svobodny ave., Krasnoyarsk, 660041, Russia*

²*Institute of Biophysics of SB RAS
50-50, Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660036, Russia
E-mail: rogozin@ibp.ru*

Biomarkers of the presence of animals and humans – fecal stanols – are well preserved in the lake sediments. They are produced by intestinal microflora from sterols. Coprostanol and epicoprostanol are specific human stanols, since they are produced in the greatest quantities compared to animals. These stanols are used to reconstruct the population history of water bodies. In this work, fecal stanols were studied for the first time in the bottom sediments of Lake Zapovednoye, located in Evenkia (Siberia, Russia). The analysis was carried out using a gas chromatograph with a mass spectrometric detector. Along the entire core, there were no pronounced signals of coprostanol and epicoprostanol compared with other stanols, which indicates a negligible contribution of humans to the pool of fecal stanols. It is obvious that throughout the entire studied time interval (up to two and a half thousand years ago) there were no permanent settlements in the lake's drainage basin, which is generally consistent with the extremely low population density of this region and unfavorable living conditions.

Key words: fecal stanols, 5 β -stanols, bottom sediments, Lake Zapovednoye, Evenkia, Holocene, paleolimnology.