федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Иркутский государственный университет»
(ФГБОУ ВО «ИГУ»)

На правах рукописи

Лубяга Юлия Андреевна

РАЗНООБРАЗИЕ И ВНУТРИВИДОВАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ МЕХАНИЗМОВ СТРЕСС-АДАПТАЦИИ ПРЕСНОВОДНЫХ АМФИПОД *GAMMARUS LACUSTRIS* И *GMELINOIDES FASCIATUS* ПРИ РАССЕЛЕНИИ В НОВЫЕ АРЕАЛЫ ОБИТАНИЯ

Специальность 03.02.10 – Гидробиология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Научный руководитель:

Доктор биологических наук

Тимофеев Максим Анатольевич

Иркутск, 2018

Содержание:

Список используемых сокращений 4

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ 5

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 12

1.1 Абиотические факторы среды как факторы, лимитирующие распространение гидробионтов в новые места обитания 12

1.1.1 Температура как фактор среды и ее влияние на гидробионтов 12

1.1.2 Минерализация как фактор среды 18

1.2 Ключевые биохимические механизмы резистентности гидробионтов 24

1.2.1 Компоненты энергетического метаболизма и особенности его работы в условиях стресса 25

1.2.2 Антиоксидантная система как важный механизм стресс-резистентности 30

1.2.3 Перекисное окисление липидов как неспецифическая стресс-реакция организма 34

1.2.4 Белки теплового шока (БТШ) как механизм неспецифической стресс-резистентности 37

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 41

2.1 Объект исследования 41

2.1.1 Систематика и экология изучаемых видов 42

2.2 Характеристика мест сбора амфипод *G. fasciatus* и *G. lacustris* 50

2.3 Методика содержания амфипод 58

2.3.1 Методика проведения экспериментов 59

2.4 Методы биохимического анализа 60

2.4.1 Определение содержания энергетических метаболитов 60

2.4.1.1 Подготовка проб для определения содержания энергетических метаболитов 60

2.4.1.2 Определение содержания лактата 61

2.4.1.3 Определение содержания глюкозы и гликогена 62

2.4.2 Определение содержания БТШ 63

2.4.2.1 Выделение общего белка 63

2.4.2.2 Определение концентрации белка по методу М. Бредфорд 63

2.4.2.3 Электрофорез белков в полиакриламидном геле 64

2.4.2.4 Иммуноблоттинг 65

2.4.3 Определение активности ферментов антиоксидантной системы 66

2.4.3.1 Выделение образцов и пробоподготовка 66

2.4.3.2 Определение активности каталазы 66
2.4.3.3 Определение активности пероксидазы 67
2.4.3.4 Определение активности глутатион S-транферазы 68
2.4.4 Определения уровня перекисного окисления липидов 68
2.5 Расчет и статистическая обработка данных 69
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ 71
3.1 Оценка показателей терморезистентности байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания 71
3.2 Показатели энергетического обмена у представителей байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды 74
3.2.1 Изменение содержания лактата у представителей байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания 74
3.2.2 Изменение содержания глюкозы и гликогена у представителей байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания ... 77
3.3 Активность ферментов антиоксидантной системы у представителей байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды 81
3.3.1 Изменение активности пероксидазы у представителей байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания 81
3.3.2 Изменение активности каталазы у байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания 83
3.3.3 Изменение активности глутатион S-трансферазы у байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания 85
3.4 Изменение содержания БТШ70 у байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды 87
3.5 Изменение уровня перекисного окисления липидов у представителей байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды 90
3.6 Корреляционный анализ полученных данных. Корреляционные сети 94
ОБЩЕЕ ОБСУЖДЕНИЕ 101
ВЫВОДЫ 109
Список литературы 111

Список используемых сокращений

АДФ – аденозиндифосфат

АМФ – аденозинмонофосфат

АОС – антиоксидантная система

АТФ – аденозинтрифосфат

АФК – активные формы кислорода

БТШ – белки теплового шока (HSP – heat shock protein)

БХШ – белки холодового шока

ГК – гексокиназа

ДК - диеновые конъюгаты

кДа – килодальтон (10^3 атомных единиц массы)

Кат – катал – единица измерения активности ферментов. 1 катал соответствует такому количеству фермента, которое превращает 1 моль субстрата за 1 с.

МДА – малоновый диальдегид

мл – миллилитр (10^{-3} л)

мг – миллиграмм (10^{-3} г)

мкг – микрограмм (10^{-6} г)

мкл – микролитр (10^{-6} л)

НАДН, Н+ – никотинамидадениндинуклеотид, восстановленный

нКат – нанокатал (10^{-9} катал)

нмБТШ – низкомолекулярные (малые) БТШ

ОДГ – октопиндегидрогеназа

ОШ – основания Шиффа

ПОЛ – перекисное окисление липидов

СРО – свободнорадикальное окисление

ТК – триеновые конъюгаты

rpm – скорость вращения ротора в об/мин

PVDF мембрана – поливинилиденфторидная мембрана для вестерн-блоттинга

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования.

Оценка устойчивости водных организмов и их способности адаптироваться к изменяющимся условиям среды является важной проблемой гидробиологии. В связи с тем, что любая среда обитания, а особенно водная, характеризуется многокомпонентностью и нестабильностью абиотических и биотических условий, живые организмы постоянно сталкиваются с теми или иными стрессовыми воздействиями.

Одной из главных характеристик живого является способность к адаптации (Селье, 1979). Адаптивные возможности организма определяются врожденными и приобретенными приспособительными реакциями на клеточном, органном, системном и организменном уровнях. Для каждого вида свойственны свои адаптационные пределы, которые обеспечивают возможность организма противостоять неблагоприятным воздействиям факторов среды, а также определяют его биогеографическое распространение (Немова, Высоцкая, 2004; Tomanek, 2008; Begon et al., 2009; Чуйко, 2014). Так, например, размер ареала вида напрямую зависит от его способности выдерживать колебания целого ряда биотических и абиотических факторов среды (Killen et al., 2010). При этом жизнедеятельность и функциональная активность организмов в большей степени определяется лимитирующими факторами окружающей среды.

Уровень минерализации является одним из ведущих абиотических средовых параметров, ограничивающих распространение гидробионтов и непосредственно влияющих на их жизнедеятельность на всех этапах развития (Галышева, 2009; Хлебович, 2010; Аладин, 2013). Данный фактор вызывает у гидробионтов необходимость справляться с гипо- и гиперосмотическими стрессами, развивая локальную адаптацию к различному содержанию ионов. Успех адаптации организмов при этом зависит от способности к перестраиванию водно-солевого обмена.

Другим важнейшим лимитирующим фактором для водных организмов является температура. В связи с тем, что метаболизм пойкилотермных организмов напрямую зависит от температурных изменений в окружающей среде, увеличение температуры приводит к изменениям интенсивности метаболизма. Так, вследствие ускорения метаболизма происходит увеличение потребления кислорода и, в результате накопления его активных форм, развивается окислительное повреждение клеток и внутриклеточных структур (Kassahn et al., 2009; Circu, Aw, 2010).

Совместное воздействие упомянутых факторов (температуры и минерализации) может критически влиять на энергетический баланс гидробионтов из-за потребности в дополнительной энергии, которая необходима для восстановления и поддержания гомеостаза (Konstantinov, 2003; Amiard-Triquet et al., 2011; Sokolova et al., 2012). Возможность организма поддерживать гомеостаз основывается на работе целого комплекса клеточных и биохимических механизмов стресс-реакции, которые позволяют предотвратить повреждение клеточных компонентов и поддерживать основные метаболические реакции, необходимые для выживания и размножения.

Известно, что большинство представителей фауны Голарктики характеризуются высокой степенью экологической пластичности и широкими адаптивными способностями. Это позволяет им переносить широкий диапазон изменений факторов среды и способствует расселению на обширной территории. Одним из таких видов является *Gammarus lacustris* Sars, 1869. Данный вид используют как модельный, на примере которого решают проблемы популяционной биологии и экологии (Yemelyanova et al., 2002; Vainio, Vainola, 2003; Daunys, Zettler, 2006; Tolomeyev et al., 2006; Matafonov, 2007; Berezina, 2007; Zadereev et al., 2010). В то же время, схожими способностями наделены и виды, являющиеся успешными интродуцентами. Интродуценты, благодаря высокому адаптивному потенциалу, могут успешно конкурировать с аборигенными видами вплоть до их вытеснения из

биоценозов, тем самым меняя структуру экосистем (Berezina, Panov, 2003; Скальская, 2008). Особый интерес среди успешных видов-интродуцентов представляет байкальский вид амфипод *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899). Данный вид стал объектом плановой интродукции в ряд озер и водохранилищ СССР начиная с 60-х гг. 20-го века. Позже *G. fasciatus* активно расселился в различные водоемы самостоятельно, сумев широко распространиться за пределы своего нативного ареала – озера Байкал (Panov, Berezina, 2002; Кухарев и др., 2008; Berezina, Strelnikova, 2010; Kangur et al., 2010; Курашов, 2012; Schletterer, Kuzovlev, 2012; Барбашова и др., 2013; Трифонова и др., 2016). В работах Д.В. Матафонова и др. (2005), Н.А. Березиной и др. (2004, 2009), Е.А. Курашова и др. (2006, 2012) приведены обзоры естественного и искусственного ареалов вида, охватывающих европейскую и азиатскую части России.

К настоящему времени причины, которые позволяют обоим видам успешно интегрироваться в фауну водоемов с различными гидрохимическими характеристиками, остаются недостаточно изученными. Вероятно, способности к освоению мест обитания за пределами естественного ареала и внедрению в нехарактерные экосистемы связаны с физиологическими и биохимическими особенностями обоих видов. Эти особенности должны обеспечивать высокий уровень экологической пластичности и возможность быстрой физиологической адаптации к новым условиям среды.

В связи с этим была сформулирована **цель** настоящего исследования – изучить разнообразие и видовую изменчивость физиологических и биохимических процессов, лежащих в основе высокой адаптивности эврибионтных видов амфипод *G. fasciatus* и *G. lacustris* при расселении в новые места обитания.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Оценить терморезистентность представителей различных популяций амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из водоемов с различными гидрохимическими характеристиками;

2. Оценить влияние постепенного изменения температуры среды на эффективность энергетического обмена у представителей различных популяций амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* по изменению содержания лактата, гликогена и глюкозы;

3. Оценить влияние постепенного изменения температуры среды на активацию компонентов антиоксидантной системы (АОС) (ферментов пероксидазы, каталазы и глутатион S-трансферазы) у представителей различных популяций амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris*;

4. Оценить влияние постепенного изменения температуры среды на уровень клеточных повреждений по изменению содержания белков теплового шока семейства БТШ70 у представителей различных популяций амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris*;

5. Оценить влияние постепенного изменения температуры среды на уровень повреждения клеточных мембран по изменению содержания продуктов перекисного окисления липидов у представителей различных популяций амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris*;

6. Провести сравнительный анализ данных, выявить взаимосвязи между исследованными показателями и определить разнообразие, видовую и популяционную изменчивость механизмов, лежащих в основе адаптивных способностей исследуемых видов.

Научная новизна.

Впервые проведено сравнительное экспериментальное исследование, направленное на выявление механизмов адаптации амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из отдаленных популяций к изменениям условий среды. Впервые показано, что уровень терморезистентности амфипод определяется уровнем минерализации водоема. Показано, что представители исследуемых видов, обитающие в различных гидрохимических условиях среды, различаются по показателям верхних критических температур аэробного метаболизма. Кроме того, выявлены различия в характере и скорости активации стресс-реакций у

представителей отдаленных популяций амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris*, экспонированных в условиях изменения температуры среды.

Теоретическая и практическая значимость.

Полученные в настоящем исследовании данные вносят существенный вклад в понимание работы системы неспецифического стресс-ответа и энергетического метаболизма, как важнейших элементов, определяющих степень адаптивности и конкурентные способности организма. Кроме того, новые данные дополняют уже существующие знания об экологии и физиологии амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris*. Результаты работы могут быть применены при прогнозировании скорости и особенностей расширения ареала вида-вселенца *G. fasciatus*, а также его взаимодействия с аборигенной фауной. Полученные данные могут быть также применены при прогнозировании формирования пространственно-временной структуры уже существующих популяций изученных видов (*G. fasciatus* и *G. lacustris*) при возможном изменении условий среды их обитания, в том числе и в результате глобальных климатических изменений. Полученные результаты могут быть использованы в соответствующих учебных курсах и программах университетов.

Защищаемые положения.

1. Уровень терморезистентности амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* определяется степенью минерализации водоема обитания.

2. Существуют межвидовые и межпопуляционные различия в скорости и характере изменения процессов обеспечения энергией и неспецифических механизмов стресс-адаптации при постепенном изменении температуры среды у амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из отдаленных популяций.

3. Стратегии биохимических адаптаций у представителей *G. fasciatus* и *G. lacustris* при расширении ареала определяются особенностями энергетического метаболизма и неспецифических механизмов стресс-адаптации.

Соответствие паспорту научной специальности.

Диссертационное исследование соответствует паспорту специальности 03.02.10 – гидробиология, а именно первому пункту «Исследование влияния факторов водной среды на гидробионтов в природных и лабораторных условиях с целью установления пределов толерантности и оценки устойчивости водных организмов в условиях изменяющихся физико-химических свойств природных вод (в частности, при антропогенном воздействии)», а также второму пункту паспорта «Исследование экологических основ жизнедеятельности гидробионтов – их питания, водно-солевого и энергетического обмена, закономерностей роста и развития, особенностей жизненных циклов».

Степень достоверности и апробация результатов.

Основные результаты диссертационного исследования были представлены на 9 всероссийских и международных конференциях. По теме диссертации опубликовано 29 печатных работ. В том числе: статей в журналах, включенных в список ВАК и приравненных к ним – 13 (в зарубежных журналах, индексируемых системой Web of Science, – 9; в российских изданиях – 4); тезисов российских и международных конференций – 16.

Объем и структура диссертации.

Диссертационная работа состоит из введения, трех глав, обсуждения результатов, выводов и списка литературы. Диссертация изложена на 143 страницах, содержит 6 таблиц и 19 рисунков. Список литературы включает 321 источник, из которых 155 на иностранных языках.

Благодарности.

Автор выражает искреннюю признательность своему научному руководителю д.б.н. М.А. Тимофееву за помощь и поддержку на всех этапах работы. Хочется выразить благодарность всем сотрудникам лаборатории «Проблемы адаптации биосистем», особенно А.Н. Гуркову, Е.В. Мадьяроваой, К.П. Верещагиной, к.б.н. Д.В. Аксенову-Грибанову, к.б.н. Ж.М. Шатилиной,

к.б.н. П.Б. Дроздовой, В.А. Емшановой, к.б.н. Д.С. Бедулиной за неоценимую помощь в сборе материала, освоении методов анализа, работе над текстом, а также за конструктивную критику и поддержку на всех этапах работы. Автор выражает сердечную благодарность д.б.н., проф. Е.А. Курашову, М.С. Трифоновой, к.б.н. П.Б. Дроздовой, акад. РАН, д.ф.-м.н. А.Г. Дегерменджи за всестороннюю помощь в организации и проведении экспериментальной работы на оз. Ладожском, Финском заливе и оз. Шира. Выражаю глубокую признательность к.б.н. Е.В. Борвинской за ценные советы и рекомендации по решению поставленных задач. Работа поддержана грантами РНФ (14-14-00400, 17-14-01063), РФФИ (14-04-00501, 15-04-06685, 16-34-60060, 17-44-388067) и Грантом Президента РФ (МК-6804.2018.4).

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Абиотические факторы среды как факторы, лимитирующие распространение гидробионтов в новые места обитания

Среда обитания всех живых организмов характеризуется постоянно изменяющимися условиями. Пойкилотермные водные организмы особенно подвержены влиянию критических значений температурного и соленостного факторов. Температура оказывает значительное влияние на пойкилотермных животных, так как скорость протекания физиологических и биохимических реакций у таких организмов напрямую зависит от температуры окружающей среды. Температурные флуктуации в естественной среде обитания часто сопряжены с изменением других абиотических факторов, например, солености. Для водных организмов отклонение от оптимальных условий солености среды может вызвать осмотический стресс, требующий регулирования клеточного обмена и изменения ферментной активности для поддержания нормального состояния клеточных функций при изменяющемся ионном балансе (Martem'yanov, 2000; Lushchak, 2011; Borvinskaya et al., 2011; Sokolova et al., 2012; Gostyukhina, Andreenko, 2015).

Изменение значений данных факторов среды может влиять на избирательную реакцию животных. Таким образом, животное будет избегать условий, которые становятся для него стрессовыми, и выбирать наиболее оптимальные для себя. При этом чем более стабильны условия среды обитания, тем более выраженным будет избирательное поведение животных в случае их изменения.

Таким образом, абиотические факторы среды, такие как температура и минерализация, определяют границы существования отдельных видов.

1.1.1 Температура как фактор среды и ее влияние на гидробионтов

Температура является одним из важнейших экологических факторов среды, который оказывает влияние на все компоненты гидробиоценоза. Вода, благодаря своей высокой теплоемкости, менее подвержена температурным

колебаниям по сравнению с воздухом и почвой. В связи с эти вода выступает наиболее благоприятной средой для развития и существования жизни. В связи с низкой скоростью изменения температуры при сезонных и суточных флуктуациях вода играет важную роль естественного регулятора. Относительно низкая теплопроводность воды приводит к возникновению слоистости, или температурной стратификации (Давыдов, 1973; Магамедов, 2002). Формированию температурной стратификации способствует также свойство воды уменьшать свою плотность с понижением температуры от 4 до 0 °С (Зубов, 1947; Орлова и др., 2017). В зимний период подледные холодные воды не погружаются вглубь, а находятся на поверхности более теплых. Летом же прогретые воды не опускаются ко дну, где находятся более холодные и потому более плотные воды (Дроздов, 2011). При этом изменение температурного режима водоема зависит от географического положения, воздушных масс, течений, глубины водоема, рельефа дна, сейсмоактивности региона и других показателей.

В зависимости от способа терморегуляции выделяют организмы с непостоянной температурой тела – пойкилотермные и организмы с постоянной температурой тела – гомойотермные. Для пойкилотермных животных экологическое значение температуры исключительно велико, так как, с одной стороны, они весьма чувствительны к ее изменениям, а с другой – крайне разнообразны температурные условия, в которых они существуют (Angilletta, 2009; Konstantinov, 2003).

Вместе с тем, живые организмы способны существовать в среде с определенным температурным диапазоном. Этот диапазон, или зона эффективных температур, находится между нижней и верхней температурной границей жизнедеятельности и является специфичным для каждого организма. В рамках диапазона оптимальных температур метаболические процессы в организме протекают с наибольшей эффективностью. В пределах от оптимальной до летальной температуры выделяют зону температурного пессимума, где отклонение параметров среды от оптимальных приводит к

изменениям в характере функционирования метаболических процессов и, в случае критических величин, к развитию стрессовой реакции (Konstantinov, 2003; Вербицкий, 2008).

В зависимости от ширины интервала температуры, при которой данный вид может существовать, организмы принято делить на эвритермные, которые способны выдерживать значительные колебания температуры, и стенотермные, существующие в узком температурном диапазоне (Степановских, 2003). Следует отметить, что, чем меньше разнообразие термических условий водоема, тем более стенотермны его обитатели. Так, для гидр вида *Hydra oligatis*, обитающих в стабильных условиях подземных холодных водоемов, и рыб вида *Trematomus bernacchii*, обитающих в холодных атлантических водах, повышение температуры среды даже на несколько градусов выше оптимального значения ведет к гибели (Bosch et al., 1988; Hofmann et al., 2000). Большую часть эндемичных видов оз. Байкал можно отнести к стенотермным и, зачастую, стенобионтным, т.е. способных существовать в постоянных, стабильных условиях среды (Тимофеев, 2010). Широк распространенные виды, такие как палеарктические амфиподы *Gammarus lacustris* и гастроподы *Limnaea stagnalis, L. auricularia*, байкальские амфиподы *Gmelinoides fasciatus*, напротив, способны обитать в водоемах с широким диапазоном температур от 1-3 ^{o}C до 28 ^{o}C (Vreto et al., 1994; Тахтеев, 2000б; Голубев и др., 2010; Ризеский, 2011). Однако, необходимо отметить, что даже если вид характеризуется широким диапазоном температур для существования, то для каждого отдельного этапа развития этого вида диапазон оптимальных температур обычно значительно сужается (Константинов, 1986).

Изменение температуры среды для гидробионтов является важным сигнальным фактором, определяющим периоды начала спаривания, линьки, миграции, длительность жизненного цикла и др. (Panov, McQueen, 1998; Neuparth et al., 2002). Температура также влияет и на географическое распространение и зональное распределение гидробионтов. Это влияние наблюдается не только за счет прямого воздействия температурного режима,

но и за счет того, что с ним сопряжен газовый режим водоемов, в первую очередь содержание растворенного кислорода. Температура может изменять степень токсического воздействия некоторых веществ на организм гидробионтов в связи с ее влиянием на интенсивность их обмена веществ. Так, например, было показано, что летальная концентрация CO_2 для *Cyprinus carpio* при 1 ^{o}C составляет 120 мг/л, а при 30 ^{o}C снижается до 55 мг/л (Никольский, 1974).

Реакции организма на изменение температуры среды в зависимости от продолжительности воздействия этого фактора возможно разделить на три категории: прямые ответы метаболических систем организма, длительность которых измеряется минутами или часами; более медленные реакции на изменение температуры с длительностью от нескольких недель и более; генотипические ответы на постоянное воздействие температурного фактора, реализация которых происходит на протяжении многих поколений (Озернюк, 1992).

Адаптация гидробионтов к изменению температурных условий среды заключается либо в смене места обитания и выборе места с устойчивым температурным режимом, либо же в выработке эвритермности за счет биохимических и физиологических адаптивных реакций (Константинов, 1986). Среди большого разнообразия адаптаций организмов к изменению температуры среды наиболее часто встречаются поведенческие реакции, в связи с тем, что подвижные организмы в первую очередь стремятся избежать негативного воздействия (Elliot, Mitchell, 1973; Hall et al., 1978; Shrode et al., 1982; Siemien, Stauffer, 1989). Распределение организмов в водоеме обычно отражает особенности его температурного профиля. Распространение отдельных видов связано как с сезонными, так и с многолетними изменениями температуры. Так, многие активные виды осенью уходят из охлаждающихся литоральных вод в открытые зоны водоемов, а весной мигрируют в обратном направлении. Возможно, с той же целью, т.е. для поиска оптимальных температурных условий, организмы могут совершать и вертикальные

миграции, (Lindstrom, 1991; Takhteev et al., 2004; Tsubokura et al., 1997 и др.). Поведенческие способы регуляции температуры тела могут включать объединение живых организмов между собой с целью групповой терморегуляции, а также изменение ориентации тела по отношению к источникам тепла, что достаточно часто встречается у рыб (Никольский, 1974). В том случае, когда организму не удается избежать прямого воздействия температуры среды, подключаются адаптационные стратегии, основанные на физиологических и молекулярно-биологических компенсаторных механизмах. Биохимические механизмы адаптации у многоклеточных организмов являются видоспецифичными и закладываются уже на ранних этапах эмбриогенеза (Feder et al., 1995; Hartl, 1996; Feder, Hofmann, 1999).

От изменения температуры среды и активности адаптационных процессов зависят интенсивность метаболизма и работа электрон-транспортной цепи в митохондриях (Stillman, Somero, 1996; Детлаф, 2001; Плакунов, 2001). Смена температуры приводит к изменению функциональной активности ряда биологических катализаторов, составляющих основу системы регуляции метаболизма (Pörtner, Farell, 2008). Критическим моментом при пониженных температурах является замерзание воды в клетках, а при повышенных — денатурация белков (Чернова, 2007). Этим процессам предшествует рассогласование клеточных и физиологических механизмов защиты у организмов, которые зависят от экологических и физиологических особенностей видов. Также под влияние температуры попадают процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембране, тем самым влияя на структурные характеристики клеточных компартментов (Ozturk, Gumuslu, 2004; Lannig et al., 2006; Lushchak, Bagnyukova, 2006; Dutra et al., 2007). Рассматривая основные последствия влияния стрессовых температур на многоклеточные организмы, следует учесть, что у специализированных клеток пойкилотермных животных были сохранены защитные механизмы, приобретенные еще на стадии одноклеточных организмов (Feder et al., 1995; Hartl, 1996; Feder, Hofmann, 1999).

В ряде экспериментальных работ с морскими и пресноводными организмами было показано, что изменение температуры среды ведет к синтезу стрессовых белков холодового и теплового шока – БХШ и БТШ (Hendrick, 1993; Колесниченко, 2003; Остроумова, 2000; Тимофеев, 2010; Sokolova et al., 2010; Shatilina et al., 2010; Young, 2012 и др.), изменению содержания энергетических метаболитов (Sokolova et al., 2010; Pörtner, 2011, 2012) и активации антиоксидантной системы (АОС) посредством изменения количества и активности ферментов АОС (Abele et al., 2001; Lushchak et al., 2005; Тимофеев, 2010) и низкомолекулярных молекул-антиоксидантов. Среди важнейших механизмов влияния температуры среды на молекулярном уровне следует отметить ее воздействие на вторичную структуру нуклеиновых кислот. Так, при температурных изменениях третичная структура тРНК теряет способность выполнять свою функцию в ферментативной реакции, в процессе которого аминокислоты присоединяются к соответствующим тРНК (Gabriel et al., 1996; Armbruster, 2001; Dionello et al., 2001). Также было показано, что при температурном стрессе изменяются показатели вязкости мембран за счет повышения или понижения числа двойных связей в мембранных липидах и включения дополнительных молекул фосфолипидов (Ozturk, Gumuslu, 2004). Температурные изменения могут подавлять нормальные регуляторные механизмы, участвующие в контроле экспрессии генов. Такое подавление может осуществляться путем препятствия включению или выключению определенного гена. Кроме того, возможна прямая температурно-индуцируемая активация генов, кодирующих именно те белки или РНК, которые нужны в изменившихся условиях. Так, если в новых температурных условиях среды необходимы иные классы стрессовых белков или ферментов, то соответствующие структурные гены могут активироваться в результате прямого воздействия температуры (Gabriel et al., 1996; Armbruster, 2001; Dionello et al., 2001).

Также от скорости изменения внешних условий, в том числе и температуры, зависят потенциальные механизмы, с помощью которых данный организм может их избежать. При этом чем быстрее будет происходить изменение, тем сильнее будет его воздействие на организмы. Таким образом,

если переходный период измеряется секундами/минутами, организму может не хватить времени даже для поведенческой адаптации. Если же параметры внешней среды изменяется постепенно, например, в течение месяцев, недель или же в течение периода жизни нескольких поколений, то будет достаточно времени для того, чтобы компенсаторные изменения произошли на уровне физиологических процессов организма. Таким образом, чем большим временем располагает организм для адаптации, тем более тщательно он может перестроить свои основные биохимические механизмы защиты.

1.1.2 Минерализация как фактор среды

Жизнь на Земле существует в большом диапазоне содержания минеральных веществ в среде – от слабоминерализованных вод до водоемов аридной зоны с насыщенным раствором солей (Хлебович, Аладин, 2010). Минерализация является одним из важнейших абиотических факторов, воздействующих на водные организмы.

Содержание солей в воде измеряется в промилле (‰), либо в г/л – количество весовых частей всех солей на 1000 частей воды. Известно, что средняя океаническая соленость составляет 35 ‰ (35 г/л), тогда как соленость пресной воды не превышает 0,5 ‰ (0,5 г/л) (Галышева, 2009).

Пресные и морские воды существенно различаются не только по концентрации солей, но и по качественному их составу. Пресные водоемы имеют широкое разнообразие минерального состава вод. В морях же, напротив, постоянство соотношений растворенных ионов строго поддерживается, и содержание отдельных ионов может быть рассчитано по концентрации лишь одного из них (Хлебович, 1974). Часто даже водоемы одного типа сильно различаются по концентрации растворенных в них различных элементов. Так, в озерах Беларуси минимальные значения показателя общей минерализации составляют около 20 мг/л (оз. Островито Большое), максимальные — 440 мг/л (оз. Ведреньское). В супергалинных озерах Казахстана этот показатель может достигать более 300 г/л (Гигиняк и

др., 2002). В связи с этим соленость, также как температура среды, очень часто выступает в качестве лимитирующего фактора, ограничивающего распространение водных организмов (Галышева, 2009; Аладин, 2013). Отношение гидробионтов к уровню солености определяет целый ряд эколого-фаунистических характеристик, в том числе, пространственно-временное распределение отдельных видов, структуру и численность популяций.

Морскую от пресной среды отличает относительно узкий соленостный диапазон, в абсолютном значении составляющий 5-8 ‰. Данный диапазон был установлен как критический для критерия биологического действия солености. Этот соленостный интервал получил название «критическая соленость» (или также известен как «хорогалиникум), и представляет собой универсальный барьер, при переходе через который меняется ряд существенных биологических свойств на разных уровнях биологической интеграции, является верхней границей распространения пресноводной фауны и нижней границей распространения морской фауны (Kefford, 2003; Хлебович, 2012; Аладин, Плотников, 2013).

Выявление зон барьерных соленостей в гидросфере в первую очередь предполагает изучение осморегуляторных способностей гидробионтов. Последнее включает выявление типов осмотических отношений внутренней среды водных организмов с окружающей средой, экспериментальное определение соленостных толерантных диапазонов и анализ сведений о соленостных границах распространения гидробионтов в водной среде. С позиции осморегуляции гидробионты подразделяются на осморегуляторов (способных к осморегуляции) и на осмоконформеров (неспособных к осморегуляции). У осмоконформеров, которые являются первично морскими формами, имеет место изоосмия (относительно постоянное осмотическое давление) внешней и внутренней среды. Осморегуляторы подразделяются на конфогиперосмотиков, гиперосмотиков, амфиосмотиков и гипоосмотиков (Hart, 1991; Charmantier, 1998; Галышева, 2009; Хлебович, 2010; Аладин, 2013).

Первичными по происхождению считаются морские организмы, о чем говорит присутствие в море большого числа крупных таксонов, таких как типы и классы. О первичности морских организмов свидетельствуют также наиболее простые формы эмбрионального развития, примитивное питание и пойкилоосмотичность, т.е. отсутствие механизмов осмотической регуляции внутренней среды. В пресную воду проникают и в ней живут только формы с гипертонической регуляцией, которая осуществляется активным захватом дефицитных в пресной воде ионов и переносом их во внутреннюю среду организма. В свою очередь, гипотоническая регуляция с распределением внутренней среды посредством выделения ионов наружу (против градиента солености) характерна для некоторых вторично морских животных пресноводного происхождения. Таким образом, сам факт наличия гипотонической регуляции можно рассматривать как доказательство пресноводного происхождения данной группы. Таковыми, например, являются креветки *Palaemonidae*, морские ветвистоусые *Caldocera* и морские костистые рыбы *Teleostei*. В группах ракушковых раков *Ostracoda* и жаброногих *Branchiopoda* представлены практически все известные формы осморегуляции, что позволило создать их классификацию по этому физиологическому механизму и установить их внутригрупповые генетические связи (Аладин, 1996).

По соотношению основных ионов морская вода оказывается близкой к жидкостям, входящим в состав внутренней среды организма, в том числе гемолимфе, плазме, крови и др. У большинства пресноводных и наземных животных соленость внутренней среды не опускается ниже 5 ‰, а у моллюсков-унионид она не превышает 2 ‰ (Хлебович, 1974).

Главными ионами внутренней среды организма, а также истинно морской воды являются ионы натрия и хлора, которые вместе составляют около 80 % от общего количества ионов. Таким образом, ионная регуляция внутренней среды организма осуществляется за счет активного транспорта данных ионов (Хлебович, 2010). Показательным признаком

жизнедеятельности организма служит поддержание ионной асимметрии по разные стороны клеточной мембраны между внутренней средой клетки и межклеточным пространством. Во всех живых клетках, фермент Na^+/ K^+АТФаза постоянно выкачивает из клетки ионы Na^+, сохраняя внутри нее высокое содержание калия. С помощью этого же механизма дефицитные ионы натрия извлекаются из пресной воды и транспортируются во внутреннюю среду, формируя внутреннюю соленость организма. Фермент Na^+/ K^+АТФаза участвует в гипотонической регуляции морских животных, вынося излишки натрия наружу. С транспортом натрия сопряжено и движение через клеточные мембраны разнообразных веществ, продуктов катаболизма и анаболизма. Транспорт натрия связан с биогенной генерацией энергии и активностью нервной системы. Движение ионов натрия лежит в основе важнейших физиологических функций живых организмов: регуляции водно–солевого баланса, межклеточного обмена веществ, формирования трансмембранного потенциала и др. (Наточин, 2005, 2007).

Одной из обширных групп животных, которая смогла заселить почти все различающиеся по солености типы местообитаний, являются ракообразные. Пресноводные ракообразные по отношению к солености осуществляют осморегуляцию по четко выраженному гипотоническому типу и являются наиболее устойчивой к данному фактору группой донных беспозвоночных (Bunn, 1992; Kefford, 2003).

В условиях изменения солености среды для ракообразных жизненно важным является поддержания гидроминерального гомеостаза. Гомеостаз поддерживается благодаря двум процессам: аниосмотическое внеклеточное регулирование, которое поддерживает осмоляльность гемолимфы, ионного состава и внеклеточного объема, и внутриклеточное изоосмотическое регулирование, которое контролирует состав и объем внутриклеточной жидкости (Freire et al., 2008; Larsen et al., 2014). Осморегуляторы имеют потенциал для поддержания осмотической и ионной концентрации гемолимфы, полностью отличной от внешних концентраций соли. Все

пресноводные животные являются осморегуляторами, вынужденными направлять энергию в два вышеупомянутых механизма осморегуляции (Whiteley et al., 2001; Bianchini, 2008; Torres et al., 2011). Для стимулирования потоков растворенных веществ, которые помогают клеткам стать изоосмными по отношению к окружающей среде, используются несколько мембранных транспортеров (Hoffmann, Dunham, 1995; Russell, 2000; Wehner et al., 2003). Наиболее часто встречающиеся стратегии осморегуляции у солоноватоводных ракообразных включают снижение проницаемости мембраны в воде, увеличение активности Na^+/K^+АТФазы или карбоангидразы, высвобождение в гемолимфу осмотических эффекторов (аминокислот и пептидов), а также выделение аммиака или гипоосмотической мочи (Mantel, Farmer, 1983; Rosas et al., 1999; Henry, 2001). Исследования, направленные на сравнение ионного состава воды и гемолимфы организмов, у которых осмотическое давление и осмолярность в клетках организма соответствует осмотическому давлению окружающей их среды, показали, что между ними всегда есть различия. Исследованиями Alonso (2009) было показано, что различные факторы, такие как пол, размер тела, питание, этапы роста и линьки, могут прямо или косвенно влиять на осмос и ионный баланс внутренней среды рачка (Alonso, 2009).

У эвригалинных животных изменение уровня солености оказывает влияние на нервную систему. Так, исследованиями по влиянию солености на мечехвоста *Limulus polyphemus* было показано, что нейроны сердечных ганглиев чувствительны по отношению к изменению осмотической концентрации. Мембраны следящих нейронов в ответ на гипоосмотический стресс деполяризировались уже в течение первых 3 часов воздействия, после чего их состояние восстанавливалось (Prior, 1981). У ребристых мидий *Geukensia granosissima* изменение солености среды влияет на размеры тела и сроки наступления половой зрелости (Honig, 2014). У амфипод изменения солености ведут к смене липидного компонента биологических мембран. Так, происходит повышение содержание фосфатидилхолина и снижение

фосфатидилэтаноламина, а также уровня ω-3 и ω-6 жирных кислот. Снижение уровня фосфолипидов–эффекторов, в свою очередь, влияет на функционирование основных ферментов осморегуляции (Na^+/K^+АТФаза и ее изоформы) (Polle, 2001). В условиях понижения солености среды обитания увеличивается вязкость липидного бислоя (Ткач, 2007).

Отношение к уровню минерализации среды различается даже у представителей близкородственных видов. По опубликованным данным известно, что при экспозиции *Austrochiltonia australis* в растворах соли ракообразные выживали при концентрации до 38 ‰ (Hart, 1991; Kefford, 2003), тогда как другой вид этого рода – *A. subtenuis*, обитающий в реках Мил Брук и Хозам, живет при солености 2,2–19 ‰ (Bunn, 1992). Представитель рода *Gammarus*, эврибионтные амфиподы *Gammarus lacustris*, достигают высокой численности в реках Хара, Ланцуг и Большая Саморода при солености 7,3–15,8 ‰.

Байкальские амфиподы по своим осморегуляторным способностям делятся на две группы. Одна группа объединяет пойкилоосмотичные виды, у которых при повышении концентрации солености внешней среды возрастает их внутреннее осмотическое давление, а степень гипертонии снижается. Другая группа видов характеризуется тенденцией сохранять гомойосмотичность при низких концентрациях солености внешней среды. Однако при достижении некоторых концентраций они также становятся пойкилоосмотичными, изменяя свое внутреннее осмотическое давление. При этом они уменьшают степень присущей им гипертонии, зачастую переходя на гипотонию. К первой группе относятся такие виды амфипод, как *Brandtia lata*, *Spinacanthus parasiticus*, *Parapallasea lagowskii*, *Carinurus reissneri*. Виды, относящиеся к данной группе, являются наиболее специализированными и развившимися в самом Байкале. К второй группе принадлежат такие виды, как *Eulimnogammarus verrucosus*, *E. cyaneus*, *G. fasciatus*, *Odontogammarus pulcherrimus*, *Pallasea cancelloides*, *Carinogammarus cinamomeus*. Представители этой группы в большей своей части представлена

невооруженными формами (*Eulimnogammarus* и *Odontogammarus*). По-видимому, эти два рода приближены к исходным для байкальских амфипод морским предкам (Базикалова и др., 1946).

Каспийским амфиподам свойственны довольно схожие с байкальскими рачками характеристики соотношения внутреннего и внешнего осмотического давления. Так, при относительно низкой концетрации солей во внешней среде, они, так же как и байкальские амфиподы, поддерживают внутреннее осмотическое давление на определенном уровне или незначительно его повышают. В связи с этим, А.Я. Базикаловой было высказано предположение, что по мере приспособления к условиям оз. Байкал амфиподы постепенно теряли присущие их морским предкам осморегуляторные способности, сохранившиеся у более консервативных форм и полностью утерянные наиболее специализированными. Это проявляется как в показателях внутреннего осмотического давления амфипод из нормальной для них среды обитания, так и в характере их стресс-реакции в ответ на меняющуюся соленость (Базикалова и др., 1946).

1.2 Ключевые биохимические механизмы резистентности гидробионтов

Ответ организма на предъявляемое ему стрессовое воздействие является генетически обусловленным и происходит на нескольких уровнях. В случаях, когда по каким-либо причинам поведенческой реакции избегания стрессовых факторов не происходит либо ее оказывается недостаточно, для нейтрализации стрессового воздействия подключаются специфические и неспецифические механизмы стресс-ответа, действующие на физиологическом и молекулярно-биохимическом уровнях. Специфическими являются ответные реакции, качественно отличающиеся в зависимости от фактора и генотипа, тогда как к неспецифическим относят однотипные реакции на действие разнородных стрессоров или разных организмов на один и тот же стресс–фактор (Csermely, 2007; Сидоренко и др., 2014).

Среди всего разнообразия адаптивных реакций, которые активируются в ответ на стрессовое воздействие, ключевую роль в резистентности организма играют следующие: система антиоксидантной защиты, перекисное окисление липидов (ПОЛ), изменение системы энергетического метаболизма и синтез белков теплового шока (БТШ). О данных элиментах резистентности организма подробно будет рассказано в следующих разделах.

1.2.1 Компоненты энергетического метаболизма и особенности его работы в условиях стресса

В клетках живого организма протекает множество ферментативных реакций, совокупность которых можно объединить понятием метаболизм. Метаболизм – это совокупность всех реакций организма, которые направлены на подержание жизнедеятельности (Ленинджер, 2013). Почти все метаболические реакции связаны между собой, так как продукт одной ферментативной реакции служит субстратом для другой, которая в данном процессе играет роль следующего этапа.

Энергетический метаболизм можно определить как процесс накопления, превращения, использования и рассеяния энергии, в основе которого лежит биологическое окисление органических соединений с расщеплением высокоэнергетических соединений (Энциклопедический…, 2007). Таким образом, полноценное функционирование организма основывается на соответствующем обеспечении его энергией (Покровский, 2007).

У аэробных организмов энергетический метаболизм включает в себя три основных этапа: подготовительный, анаэробное окисление (гликолиз) и аэробное окисление (дыхание). На подготовительном этапе происходит расщепление сложных соединений до простых. Основным моносахаридом, с которого начинаются процессы анаэробного окисления, является глюкоза, которая метаболизируется в результате гликолиза с образованием пирувата, АТФ и НАДН. Реакция гликолиза имеет уравнение:

$$C_6H_{12}O_6+2АТФ+2НАД^++2P_i \rightarrow 2CH_3COCOO+2АТФ+2H_2O+2НАДФ+2H^+ \quad (1)$$

Глюкоза Пируват

При аэробном окислении пируват поступает в цикл трикарбоновых кислот. Уравнение реакции гликолиза и аэробного окисления в суммарном виде выглядит следующим образом:

$$C_6H_{12}O_6+10НАД^++2CoQ+2АДФ+2P_i+2ГДФ + 2P_i + 4H_2O \rightarrow \quad (2)$$
$$6CO_2 +10НАДН+10H^++2CoQH_2+2АТФ+2ГТФ$$

Пластичность энергообеспечения стрессовой реакции зависит от эффективности протекания процессов образования энергии, где основным является дыхание. Эффективность дыхания зависит от процесса транспорта электронов по электрон-транспортной цепи митохондрий, баланса восстановленных и окисленных форм никотин- и флавиннуклеотидов и от концентрации субстратов окисления (Ленинджер, 2013). При недостатке кислорода энергообеспечение организма происходит преимущественно за счет анаэробного метаболизма.

В ходе гликолиза расщепление 1 молекулы глюкозы дает 4 молекулы аденозинтрифосфата (АТФ), а в ходе последующего аэробного окисления – 38 молекул АТФ (в случае полного окисления до CO_2 и H_2O). При недостатке глюкозы и активации циклов Кори и цикла аланина субстратами глюконеогенеза выступают пируват, лактат и аланин (Кольман, Ремм, 2000). Высокие же концентрации глюкозы создают в клетке гипертоническую среду, что приводит к губительному притоку воды внутрь клетки. В связи с этим, организм не хранит глюкозу в свободном виде, а запасает глюкозу в виде гликогена, в клетках мышечной ткани, печени или гепатопанкреасе. Таким образом, гликоген является резервом гликолитической энергии (Larade et al., 2002).

При стрессе организму необходимо эффективно расходовать и восполнять свои энергетические резервы, поддерживая свой энергетический метаболизм на высоком уровне. Так, одним из наиболее важных, основных и

продуктивных путей синтеза АТФ является окислительное фосфорилирование:

$$АДФ + P_i + Энергия \rightarrow АТФ \quad (3)$$

Расщепление же АТФ до АДФ и P_i приводит, в свою очередь, к высвобождению энергии, благодаря чему обеспечивается энергетическое сопряжение и возможность протекания энергозависимых процессов (большинство анаболических путей):

$$АТФ \rightarrow АДФ + P_i + Энергия \quad \Delta G = -30{,}5 \text{ кДж/Моль} \quad (4)$$

В переносе энергии роль посредников от питательных веществ к энергопотребляющим процессам играют фосфорилированные нуклеотиды, в частности АТФ, аденозиндифосфат (АДФ), аденозинмонофосфат (АМФ). Энергия для синтеза АТФ поступает от субстратов, отдающих электроны в ходе их дегидрирования, тогда как электроны извлекаются из субстратов в ходе гликолиза и гликогенолиза (Mathews, 2000; Терентьев, 2006).

Реакция окислительного фосфорилирования является составной частью цикла трикарбоновых кислот. Промежуточные метаболиты этой реакции, такие как ацетил-КоА, пируват, сукцинат, малат, являются также начальными и промежуточными соединениями многих других катаболических и анаболических путей. Однако эти метаболические реакции являются обратимыми (Матекин и др., 2003). Моносахариды, поступающие в клетку, превращаются в глюкозу через каскад реакций, пополняя запасы субстрата для гликолиза. Аминокислоты, в свою очередь, также подвергаются ряду превращений. Таким образом, цикл трикарбоновых кислот обеспечивает взаимосвязь всех метаболических путей клетки (Mathews et al., 2000). Регуляция цикла трикарбоновых кислот тонко сопряжена с регуляцией пируватдегидрогеназного комплекса, который обеспечивает цикл постоянным поступлением ацетил-КоА, образованного из пирувата. Скорость функционирования данных процессов соответствует потребности клеток в молекулах ацетил-КоА, необходимых для синтеза АТФ.

В анаэробных условиях синтез АТФ происходит из АДФ и фосфагенов (группа природных органических фосфорных соединений, использующаяся в организме в роле накопителей энергии). При этом перенос фосфатной группы с фосфагена (аргининфосфата для беспозвоночных) на АДФ является суммарной реакцией гидролиза аргининфосфата и синтеза АТФ. Расщепление молекулы аргининфосфата приводит к высвобождению 13-15 кДж/моль энергии (Grieshaber et al., 1994).

Взаимопревращению одних форм работы и энергии в другие способствует энергетическое сопряжение. Основной частью окислительного фосфорилирования выступает дыхательная цепь митохондрий, компоненты которой обеспечивают перенос электронов от восстановленного убихинона и/или НАДН, ФАДН на молекулярный кислород. Таким образом, при недостатке кислорода происходит снижение эффективности функционирования дыхательной цепи за счет недостатка молекул являющихся переносчиками электронов (Кольман и др., 2000).

Повышенное энергопотребление в условиях стресса приводит к истощению запасов АТФ, что в норме сопровождается повышением уровня АДФ и АМФ, НАД$^+$ и количества электронов, поступающих в дыхательную цепь. Общим принципом регуляции цикла трикарбоновых кислот и пируватдегидрогеназного комплекса является одновременная активация в условиях энергодефицита и совместное ингибирование при высоком энергетическом клеточном потенциале, что определяется концентрациями АТФ, НАДН, ацетил-КоА. При этом молекулярно–энергетические механизмы адаптации проявляются в ускоренном распаде глюкозы до пирувата в ходе гликолиза и ускорением процесса утилизации пирувата и оксалоацетата. В случае замедления или чрезмерного угнетения метаболизма наблюдается снижение энергопотребления, в связи с чем в клетках происходит увеличение концентраций АТФ и НАДН и уменьшение содержания АДФ, что приводит к снижению активности цикла трикарбоновых кислот (Биологическое…, 2012).

Вследствие стрессового воздействия при клеточной гипоксии многие организмы, в том числе и гидробионты, способны увеличивать долю анаэробного метаболизма для восполнения запасов энергии (Brand et al., 1996; Brooks, 2002; Pinto et al., 2003; Pörtner, 2001, 2004, 2007). Основными путями анаэробиоза являются лактатный и сукцинатный метаболические пути (Sokolova et al., 2003, 2004).

При лактатном метаболическом пути образующийся в результате гликолиза НАДН H^+ вновь окисляется, восстанавливая пируват до лактата. Данный путь образования энергии является малоэффективным, но позволяет генерировать АТФ с высокой скоростью в условиях недостатка кислорода. Увеличение доли анаэробного гликолиза при стрессе объясняется тем, что электрон-транспортная цепь митохондрий не успевает справляться с возросшими энергетическими потребностями клеток. Помимо этого, в результате воздействия стрессовых факторов в клетках активируются процессы ПОЛ и происходит повреждение мембранных структур (Murzina, 2010). Данные повреждения ведут к снижению эффективности работы электрон-транспортной цепи и, соответственно, к снижению эффективности получения энергии путем окислительного фосфорилирования. При данных условиях анаэробный гликолиз способен частично компенсировать энергетические клеточные затраты. Тем не менее, при длительном стрессовом воздействии за счет накопления лактата возникает клеточный ацидоз, что, в свою очередь, усиливает повреждающее воздействие стрессовых факторов (Alberts et al., 2009).

В условиях недостатка кислорода в качестве источников энергетических метаболитов также могут выступать жиры, однако этот способ является малоэффективным для получения эндогенной метаболической энергии и сопровождается интенсивным образованием цитотоксичных кетоновых тел - ацетона, ацетоуксусной и β-оксимасляной кислот и др. (Матекин и др., 2003).

В ряде работ было показано, что в условиях стресса, индуцированного температурным воздействием, у водных организмов происходит накопление

продуктов анаэробиоза и снижение продуктов аэробного обмена, что связано с нарушением работы электронтранспортной сети митохондрий и развивающимся ацидозом (Stillman, Somero, 1996; Somero, 2002; Frederich, Pörtner, 2000; Sokolova, Pörtner, 2002; Selvacumar, Geraldine, 2004). В частности, в работах Sokolova, Pörtner показано, что изменение содержания продуктов анаэробного энергетического обмена при температурном стрессе видоспецифично. При экспозиции в среде с повышенной температурой у морских гастропод *Littorina saxatilis* не происходит изменения содержания лактата (Sokolova, Pörtner, 2002), тогда как у морского паука *Maja squinado* содержание лактата в гемолимфе, гепатопанкреасе и мышцах увеличивается (Frederich, Pörtner, 2000). В условия повышения температуры среды происходит увеличение содержания лактата у пресноводной креветки *Macrobrachium malcolmsonii* во всех тканях (Selvacumar, Geraldine, 2003) и у крабов видов *Leptograpsus variegatus* (Greenaway et al., 1992), *Petrolisthes eriomerus* (Stillman, Somero, 1996). Однако в условиях воздействия повышенных температур у фарфорового краба (*Petrolisthe cinctipes*) отмечали снижение содержания лактата (Somero, 2002). Вероятно, различия в ответе на стрессовое воздействие могут быть связаны с разными стратегиями биохимической адаптации у видов. В основном изменения содержания продуктов анаэробиоза исследователи связывают с недостаточным снабжением клеток кислородом и возникновением клеточной гипоксии, в частности при температурном стрессе (Stillman, Somero, 1996; Frederich, Pörtner, 2000; Sokolova, Pörtner, 2003).

1.2.2 Антиоксидантная система как важный механизм стресс-резистентности

Атомарный кислород является ключевым элементом метаболизма аэробных организмов. Окислительные реакции с участием кислорода наиболее эффективны с точки зрения снабжения тканей живых организмов энергией и лишь малое число видов животных способно существовать в

условиях аноксии. Основная часть современных животных способна совершать свой жизненный цикл только при наличии кислорода.

Несмотря на тот факт, что кислород необходим для выживания большинства организмов, сам по себе он оказывает ряд негативных воздействий, так как при многих метаболических процессах происходит образование активных форм кислорода (АФК) (Донцов и др., 2006). Функционирование и развитие как отдельных клеток, так и организма в целом в аэробной среде без существования антиоксидантных защитных систем, учитывая токсический эффект АФК, невозможно. Так, постоянное образование прооксидантов в живом организме уравновешено их дезактивацией антиоксидантами. В связи с этим, для поддержания гомеостаза организму необходима непрерывная регенерация антиоксидантных способностей (Меньщикова и др., 2006). Отсутствие или нарушение данного процесса сопровождаются накоплением окислительных повреждений и приводит к возникновению окислительного стресса, который является элементом целого ряда заболеваний и патологических процессов (Зенков и др., 2001; Меньщикова и др., 2006).

В результате эволюции в кислородных условиях живые организмы сформировали систему эффективной борьбы с АФК и с последствиями, вызванными окислительными повреждениями – систему антиоксидантной защиты (Казимирко, 2004; Almeida et al., 2002). Часто индукторами оксидативного стресса являются температурные изменения (гипо- и гипертермия), интоксикация гидробионтов, УФ-излучение и изменение содержания кислорода в среде (гипо- и гипероксия) (Зенков и др., 2001).

У живых организмов антиоксидантная защита представлена различными веществами и системами, которые находятся в постоянной взаимосвязи (Журавлев, 1982). Так, система антиоксидантной защиты является одним из важнейших механизмов, направленных на поддержание химического постоянства его внутренней среды и целостности организма. АОС включает в себя механизмы, способные как предотвращать образование свободных радикалов, которые могут осуществлять окислительное

повреждение и деструкцию компонентов живых систем, так и ликвидировать уже образовавшиеся (Янковский, 2000; Костеша и др., 2008). Важнейшее значение в системе антиоксидантной защиты играют ферментные системы, которые ответственны за метаболизм перекиси водорода (промежуточного продукта многих окислительных процессов) и самих органических пероксидов. Данные функции выполняют ферменты каталаза, пероксидазы, глутатионтрансферазы и др.

Антиоксидантные ферменты в больших количествах локализованы в клеточных компонентах, таких как пероксисомы (Del Rio et al., 1990; Dhaunsi et al., 1993). В свою очередь, ферменты АОС характеризуются высокой специфичностью действия, направленного против определенных АФК, специфичностью клеточной локализации, специфичностью использования металлов в качестве кофакторов (Sies, 1991; Wendel, 1988). Ниже приведена краткая характеристика ключевых ферментов АОС:

Пероксидаза. Основной функцией данного фермента является катализ реакции окисления химических соединений за счет кислорода перекиси водорода с образованием промежуточных комплексов, обладающих различными спектральными характеристиками. Геминовая часть молекулы, в свою очередь, выполняет роль активного центра, который участвует в разложении или активации перекиси водорода, в результате чего возникают радикалы соответствующих субстратов. Пероксидаза является ферментом, который реагирует на самые разнообразные воздействия посредством изменения состава своих изоформ, либо повышения активности уже присутствующих молекулярных форм. После синтеза изоферменты пероксидазы могут перемещаться из цитоплазмы в межплазматическое пространство, т.е. данный фермент является секретируемым. Высокий полиморфизм пероксидаз обусловлен с одной стороны тем, что они кодируются большим количеством локусов и аллелей, а с другой – посттранскрипционными модификациями молекул, связанными с работой специфических протеаз и гликозилированием отдельных изоферментов. В

клетке пероксидазы существуют как в цитоплазматической растворенной, так и в мембраносвязанной формах (Рогожин, 2004).

У пероксидазы было обнаружено две различные функции – оксидазная и пероксидазная. Это позволяет предположить, что в каталитическом действии фермента могут принимать участие два независимых активных центра, пространственно разделенных, хотя и расположенных близко друг к другу (Кольман, Ремм, 2000). Таким образом, пероксидаза, являясь полифункциональным ферментом, участвует во многих процессах жизнедеятельности.

Каталаза. К функциям данного фермента относится катализация реакции разложения пероксида водорода, образующегося в процессе биологического окисления, на воду и молекулярный кислород. Данный фермент является гемсодержащим и обладает молекулярной массой около 240 кДа. По своей структуре каталаза – тетрамер, содержащий по одной прочно связанной гемовой простетической группе на субъединицу. При этом сами по себе субъединицы не обладают каталитической активностью.

Каталаза может присоединять четыре молекулы НАДФH_2, что предохраняет ее от инактивации и повышает ферментативную активность. Данный фермент относится к группе ферментов, которые длительно сохраняют свою высокую активность и практически не требуют энергии активации. Скорость реакции каталазы лимитируется лишь скоростью диффузии субстрата к активному центру. Внеклеточная роль каталазы незначительна, так как из-за большой молекулярной массы каталаза плохо проникает внутрь клеток, тогда как во внеклеточных жидкостях быстро теряет свою активность в результате действия протеолитических ферментов. В клетках каталаза локализована преимущественно в пероксисомах, где концентрируется около 80 % фермента (Чеснокова и др., 2006).

Глутатион S-трансферазы. Основной функцией глутатионтрансфераз является защита клеток от продуктов ПОЛ и ксенобиотиков путем их глутатионилирования, восстановления или нуклеофильного замещения гидрофобных групп. В отличие от пероксидаз, глутатионтрансферазы не взаимодействуют с перекисью водорода, однако данные ферменты способны

эффективно восстанавливать гидрофобные гидроперекиси с большим объемом молекулы (гидроперекиси полиненасыщенных жирных кислот, фосфолипидов) (Бондарь и др., 1989). Глутатионтрансферазы способны восстанавливать гидроперекисные группы окисленных фосфолипидов в мембранах без предварительного фосфолипазного гидролиза (Ланкин, 1985; Бондарь, 1989; Hayes et al., 2005). Конъюгируя с глутатионом, глутатион-трансферазы способствуют выведению из организма токсичных продуктов ПОЛ (Hayes et al., 2005). В связи с этим, данный антиоксидантный фермент является важным компонентом АОС, в частности от токсичных эндогенных метаболитов, образующихся при окислительном стрессе (Соколовский, 1988; Колесниченко, Кулинский, 1989). Глутатионтрансферазы принадлежат к трем основным семействам, два из которых (цитозольные и митохондриальные) относятся к водорастворимым белкам, а глутатионтрансферазы третьего семейства (микросомальные) обладают липофильной природой (Hayes et al., 2005; Меньщикова и др., 2006).

1.2.3 Перекисное окисление липидов как неспецифическая стресс-реакция организма

Воздействие АФК на клеточные мембраны приводит к развитию процессов ПОЛ и, как следствие, к нарушению состава и структуры липидов. Процесс ПОЛ широко распространен и обнаруживается как в природных, так и в искусственных мембранах (Каган, Меерсон, 1984; Mittler, 2002; Del Rio et al., 2005). Рассмотрение роли реакций свободнорадикального окисления (СРО) липидов, в настоящее время позволяет рассматривать процессы ПОЛ как универсальный механизм повреждения мембранных структур клетки при действии стрессовых факторов и различных патологических состояниях, а также при старении (Halliwell, Gutteridge, 2015).

В нормальных условиях в клетках постоянно присутствует определенный уровень ПОЛ, обусловленный образованием АФК. Равновесие в клетке между этими двумя процессами поддерживается многоуровневой АОС. Смещение данного равновесия является одним из первых

неспецифических звеньев в развитии стресс-реакции и может служить биологически важным изменением внутреннего гомеостаза клетки, которое запускает другие механизмы защиты. Окисленные липиды могут являться как индукторами, так и первичными медиаторами повышения стресс-резистентности клеток (Барабой, 1991; Abuja, Albertini, 2001).

В инициировании реакции ПОЛ важную роль играют протонированный радикал кислорода, гидроксильный радикал, синглетный кислород и ионы металлов переменной валентности (Жибоедов и др., 1987; Рубин, 1987; Negre-Salvayre et al., 2008). В присутствии ряда соединений (АДФ, пирофосфат, аскорбиновая кислота, ЭДТА, некоторые белки) окисление Fe^{2+} сопровождается появлением первичных свободных радикалов липидов и приводит к образованию АФК (Козлов и др., 1983; Каган, Меерсон, 1984; Рубин, 1987; Abuja, Albertini, 2001).

В клетках реакции СРО липидов находятся под контролем различных регуляторных систем. Окисление липидов является многостадийным и сложным процессом. Особенности данного процесса обусловлены участием в окислении ряда ферментов, структурированностью липидного бислоя, высокой степенью ненасыщенности жирных кислот (в составе фосфолипидов), а также многокомпонентностью состава липидов и присутствием в них веществ, способных усиливать или ослаблять действие природных антиоксидантов и инициировать окисление (Бурлакова, 1985; Halliwell, Gutteridge, 2015).

Первичными продуктами ПОЛ являются диеновые конъюгаты (ДК) – токсичные метаболиты, оказывающие повреждающее действие на белки, липопротеиды и нуклеиновые кислоты. Данные продукты ПОЛ являются неустойчивыми веществами и легко подвергаются дальнейшим превращениям с образованием более устойчивых вторичных продуктов окисления. В процессе окислительной деструкции липидов образуется малоновый диальдегид (МДА), относящийся к вторичным продуктам ПОЛ. Образование наиболее токсичных продуктов ПОЛ – оснований Шиффа (ОШ), которые

являются конечными продуктами ПОЛ, происходит при взаимодействии диальдегидов со свободными группами мембранных соединений. Накопление конечных продуктов ПОЛ дестабилизирует структуру биологических мембран, что приводит к повреждению клеток и тканей (Бурлакова, 1985). Интенсификация ПОЛ ведет к ускорению обмена фосфолипидов, изменению их относительного состава, изменению белок-липидных отношений, вследствие чего изменяется структура мембран.

Перекисное окисление разных жирных кислот может протекать с разным соотношением между отдельными путями развития ПОЛ и с образованием разных продуктов. Так, большая часть арахидоновой кислоты окисляется до МДА, а продуктом перекисного окисления линоленовой кислоты является преимущественно 4-гидрокси-2-ноненаль (Зайцев, Закревский, 1998; Балаболкин и др., 2000).

На примере серебряного карася *Carassius auratus* было показано влияние гипероксии и аноксии на изменение интенсивности процессов ПОЛ в клетках печени, почек и мышцах рыбы (Lushchak et al., 2001, 2005). При изучении влияния различных токсикантов на *Daphnia magna* было показано, что медь и метадион (гербицид) вызывали увеличение содержания продуктов ПОЛ, в частности МДА (Barata et al., 2005). У двустворчатого моллюска *Modiolus modiolus* при воздействии кадмия наблюдали увеличение концентрации МДА в пищеварительной железе и жабрах более чем в 2,5 раза (Довженко и др., 2005).

В связи с этим, уровень ПОЛ может отражать степень повреждения клеток и, соответственно, общее физиологическое состояние организма. Благодаря чему возможно использование данного показателя в качестве биомаркера повреждения клеток (Doyotte et al., 1997; Vega, 2000; Correi et al., 2002).

1.2.4 Белки теплового шока (БТШ) как механизм неспецифической стресс-резистентности

Все живые клетки при стрессовом воздействии отвечают синтезом специфического набора белков, которые называют белками теплового шока (БТШ).

По результатам ряда работ было показано, что синтез БТШ индуцируется не только воздействием высоких температур, но и другими стрессовыми факторами, такими как низкие температуры, оксидативный стресс, засоление, ионы тяжелых металлов и др. (Kregel, 2002; Santoro, 2000; Тимофеев, 2010). Помимо того, что БТШ являются стресс-индуцируемыми белками, они принимают активное участие в механизмах поддержания белкового гомеостаза и участвуют в процессах фолдинга (Gething, Sambrook, 1992; Hartl, 1996; Feder et al., 1997; Robert, 2003; Плеханов и др., 2006; Evgen'ev, 2007; Shilova et al., 2007; Rozhkova et al., 2010). При этом важно отметить, что конститутивное содержание БТШ при стрессе может изменяться (Rubin, 2003).

При стрессовых воздействиях активирующийся синтез БТШ приводит к снижению синтеза других клеточных белков. С прекращением стрессового воздействия, синтез других клеточных белков возобновляется. При этом в течении некоторого времени повышенное содержание стрессовых белков БТШ сохраняется несмотря на то, что их мРНК разрушаются быстро (Кулаева, 1997; Armruster et al., 2001). Именно данный механизм защиты позволяет обеспечить увеличение резистентности организма к возможным последующим стрессовым воздействиям и не только к повторному действию того же фактора, но и к воздействию стрессовых факторов другой природы.

Среди множества БТШ выделяют несколько основных семейств, которые принято обозначать в соответствии с их молекулярной массой, выраженной в килодальтонах (кДа). К первому семейству относятся низкомолекулярные (малые) БТШ (нмБТШ, sHSP), которые характеризуются молекулярной массой от 12 до 43 кДа. Следующие семейства белков с молекулярными массами, близкими к 60 кДа, 70 кДа, 90 кДа, 100 кДа - БТШ60

(HSP60), БТШ70 (HSP70), БТШ90 (HSP90) и БТШ100 (HSP100) соответственно (Sanders, 1991; Панасенко и др., 2003). Широко представленной и хорошо изученной группой БТШ являются молекулярные шапероны БТШ70. Данная группа характеризуется высокой степенью консервативности и принимает участие в системе стресс-адаптации у эукариотических организмов, в том числе гидробионтов. Согласно классификации Lindquist (1966), к семейству БТШ70 относятся глюкозо-регулируемые белки (с молекулярными массами 75, 78, 80 кДа), которые синтезируются при истощении клеточного пула глюкозы; в связи с этим происходит взаиморегуляция ответа на стрессовое воздействие с интенсивностью клеточного метаболизма.

Наиболее важную роль некоторые белки семейства БТШ70, как ранее упоминалось, играют в фолдинге, они вместе с ко-шапероном БТШ40 связываются с белком сразу после его синтеза на рибосоме. Если белок так и не обретает необходимой структуры, с данным шапероновым комплексом связываются БТШ60 и соответствующий ко-шаперонин БТШ10. Еще одной важной функцией БТШ70 является удержание вновь синтезируемых белков от неспецифической агрегации и направление поврежденных белков на лизосомальный путь расщепления для дальнейшей деградации (Наградова, Муронец, 1991; Наградова, 1997; Chiang et al., 1989). Важность данных функций БТШ70 объясняется тем, что накопление поврежденных полипептидов приводит к активации механизмов апоптоза. Помимо этого, аминокислоты, полученные в результате деградации одних белков, направляются на синтез других необходимых организму белков (Sanders, 1993; Zhu et al., 1997; Dix, 1997). Неблагоприятные условия среды могут приводить к увеличению синтеза БТШ70 или его дополнительных изоформ в клетке (Флеров и др., 2003; Подлипаева и др., 2006; Смуров и др., 2007). Участие БТШ в механизмах терморезистентности гидробионтов довольно хорошо изучено. По результатам проведенных исследований было показано, что у малоподвижных и сидячих организмов, обитающих в зоне приливов

(мидии и личинки морских креветок *Artemia sp.*), происходит увеличение содержания БТШ в период отлива в ответ на повышение температуры. Также было показано, что у моллюсков, которые обитают в прибрежной зоне, синтез БТШ70 происходит при более высоких температурах, чем у моллюсков, которые обитают в нижних отделах литорали и сублиторали (Martin, 1999). На примере мидий *Mytilus trossulus*, относящихся к северным видам, и родственном им тепловодном виде мидий *M. galloprovincialis*, показано, что северные мидии имеют более низкий порог температуры для экспрессии БТШ70. Таким образом, закономерно говорить о том, что сезонные колебания температуры и особенности температурного режима оказывают прямое влияние на уровень содержания БТШ (Feder, Hofman, 1999).

В ряде работ было показано участие БТШ70 в приобретенной термотолерантности у различных групп живых организмов, например, бактерий, иглокожих, амфипод и рыб (Landry et al., 1982; Hahn, Li, 1990; Smurov et al., 2003; Shatilina et al., 2010). В работе Whiteley исследованы механизмы стресс-резистентности у видов *Glyptonotus antarclicus, Idotea rescala, Austropotamobius pallipes и Pseudothelphus agarmani*. В упомянутом исследовании показано, что терморезистентность данных видов зависит от эффективности синтеза БТШ (Whiteley et al., 2006). Помимо степени терморезистентности, важной причиной, влияющей на индукцию синтеза БТШ, является зараженность организмов паразитами. Так, в работе Sures и Radszuweit (2008) показано, что повышенная температура ведет к усилению синтеза БТШ70 у пресноводных незараженных амфипод *Gammarus roeseli*, тогда как у зараженных паразитом *Polymorphus minutus* рачков активация синтеза не отмечена.

Исследования стенотермной антарктической рыбы вида *Trematomus bernacchii*, живущей в стабильных условиях низких температур в течение более чем 15 млн. лет, показали, что в условиях экспонирования при повышенных температурах, усиления синтеза БТШ70 не происходит. Обнаруженный синтез БТШ70 являлся конститутивным, т.е. необходимым

для поддержания нормального синтеза клеточных белков. Возможно, такая реакция организма является результатом длительной эволюции в условиях стабильных низких температур (Hofmann et al., 2000). На примере байкальских и голарктических амфипод было экспериментально показано, что в ответ на постепенную и острую гипертермию наблюдается изменение содержания БТШ70, которое является видоспецифичным и зависит от экофизиологических характеристик видов (Тимофеев, 2008, 2009, 2010; Shatilina et al., 2010; Bedulina et al., 2013 и др.). В связи с вышеизложенным можно заключить, что синтез БТШ является универсальной и видоспецифичной системой, участвующей в стресс-резистентности организмов на протяжении всей их жизни (Berger, Woodward, 1983; Lindquist, Laszlo, 1992; Feder et al., 1997; Тимофеев, 2010; Bedulina et al., 2013; и др.).

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объект исследования

В качестве объекта данного исследования была выбрана широко распространенная в морских и пресных водоемах мира группа высших ракообразных – амфиподы (Amphipoda, Crustacea). Представителей данной группы водных организмов относят к одному из отрядов высших ракообразных (Malacostraca), который объединяет свыше 6400 морских, пресноводных, подземных и даже наземных видов. В озере Байкал он представлен подотрядом гаммарид (Gammaridea) (Тахтеев, 2000а; Байкал: природа и люди…, 2009).

Разнообразие амфипод в оз. Байкал не имеет аналогов ни в одном континентальном водоеме мира. В озере обитает 4,3% видов всей мировой фауны амфипод и 45,3 % видов пресноводных амфипод, населяющих поверхностные водоемы мира. Такое значительное таксономическое разнообразие является следствием активного процесса эволюции данных организмов в Байкале. Однако механизмы эволюции байкальских амфипод до сих пор остаются не раскрытыми (Тахтеев, 1998, 2000а; Тахтеев и др., 2003). Данная группа живых организмов является полностью автохтонной, в связи с тем, что все виды произошли именно в Байкале и предшествовавших ему водоемах (Русинек, 2012). Систематика изучаемых организмов в Байкале выглядит следующим образом: к отряду Amphipoda относят шесть семейств, включающих не менее 273 вида и 73 подвидов амфипод, по таксономической системе В.В. Тахтеева (2000) (Байкаловедение…, 2009) или же 345 видов по мнению Р.М. Камалтынова (Аннотированный…, 2001).

В ходе данной работы при проведении лабораторных экспериментов были использованы виды амфипод *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899) – литоральны байкальский эндемик и голарктический (европейско-сибирский) *Gammarus lacustris* Sars (1863) – типичный обитатель мелководных водоемов.

2.1.1 Систематика и экология изучаемых видов

В данном разделе представлены материалы по систематике и экологии использованных видов.

РОД: GMELINOIDES BAZ.

Вид: *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899)

Взрослые представители вида имеют размеры тела 9-15 мм. Цвет грязно-желтоватый с черными пятнами на сегментах. Типичный литоральный вид. Распространен по всему Байкалу на глубинах от 0 до 5 м, иногда на глубине до 100 м на камнях, поросших водорослями, или на песчаных грунтах. Фитофаг (Kamaltinov, 1999). Вид относится к группе донных амфипод с переменным образом жизни и может вести как нектобентический и фитофильный, так и зарывающийся образы жизни (Тахтеев, 2000а). Особенно обилен в заливах на песках и илах с детритом и растениями, встречается в большинстве байкальских соров, иногда в соседстве с голарктическим *G. lacustris* (Снимщиков,1977; Черепанов и др., 1977).

Вид *G. fasciatus* является одним из предполагаемых теплолюбивых реликтов Байкала (Тахтеев, 2009). Вид принадлежит к немногочисленной в Байкале группе настоящих эврибионтов и занимает в ней крайнее место по своей способности к активному освоению разнообразных биотопов в водоемах кардинально отличного типа (озера от эв- до олиготрофных, а также реки). Представители данного вида обитают на разнообразных грунтах: каменистых, песчаных, от чистых песков до песков с различной степенью заиления, населяет прибрежные растительные биоценозы (Кожов, 1947). В большинстве населяемых водоемов *G. fasciatus* преимущественно обитает на песчаных грунтах с различной степенью заиления и зарастания, а также встречается на каменистых грунтах с подстилающими их песками (Бекман, 1962; Мордухай-Болтовской и др., 1971; Тютеньков, Козляткин, 1973; Волков, Потина, 1977; Саватеева, 1985; Синицын, 1988; Панов, 1994; Скальская, 1998; Кузьмич, Мельник, Михайлов, 2001; Березина, 2003, 2005; Матафонов, 2003, 2005). Помимо перечисленных выше биотопов *G. fasciatus* встречается в обрастаниях

различных субстратов – затопленных деревьев, кустарников, друзах дрейссены и т.д. (Вершивин, 1967; Мордухай-Болтовской и др., 1971; Волков, Потина, 1977; Скальская, 1994, 1998; Мельник, Михайлов, 2001).

Известно, что популяции данного вида характеризуются высокой изменчивостью. Большое значение при этом имеют условия питания и температурный режим местообитаний. По свойству образовывать поселения большой плотности вид входит в один из самых массовых форм Байкала. Значительные скопления рачков наблюдаются весной при миграциях взрослых особей на места нереста к берегам, в затишные места и летом, за счет рожденного здесь же молодого поколения (Базикалова, 1941; Гаврилов, 1949; Бекман, 1962). *G. fasciatus* является видом с широкими адаптивными возможностями, у которого меняется характер и динамика размножения в зависимости от условий обитания (в основном от температуры и пищи). При низкой температуре воды увеличивается продолжительность эмбрионального развития яиц. Эта стадия для *G. fasciatus* требует длительного времени, а так как рост продолжается только в теплое время года и не успевает закончится за одно лето, рачки достигают половой зрелости лишь после двух сезонов роста. Так, потенциальная продолжительность их жизни увеличивается до трех лет. Иногда наблюдается быстрое развитие рачков и откладка яиц в 2-3х месячном возрасте при крайне малых размерах рачков. Это происходит при комбинации нескольких факторов – высокой температуры и недостаточной обеспеченностью пищей, что обуславливает ускоренное и неравномерное развитие рачков при низком уровне их роста (Бекман, Базикалова, 1951; Бекман, 1962).

По отношению к недостатку кислорода в воде *G. fasciatus* является одной из наиболее стойких байкальских форм (Бекман, 1962). Пороговая концентрация кислорода для данного вида в условиях эксперимента составляет 0,47 мг/л (Базикалова, 1941). Предел, наблюдаемый в природе, лежит, естественно, выше – около 2 мг/л (Бекман, 1962). Результаты исследований, проведенных позднее другими авторами, оказались близкими –

0,4 мг/л (Тимофеев, 2000). В работе О.И. Мицкевича (1987) было показано, что снижении величины предельно допустимого содержания кислорода для выживания 50 % рачков в опытах соотносится с уменьшения их размеров. Значение кислородного порога изменялось от 0,60 до 1,02 мг/л при уменьшении длины *G. fasciatus* от 7,1 до 3,5 мм. Однако даже для более крупных особей эта величина достаточно высока и свидетельствует об их оксифильности (Мицкевич, 1987).

Данный вид устойчив к изменению концентрации основных химических ионов в воде. Однако важным для него, как и для всей группы амфипод, является минимальный предел солей в водоеме, в частности, кальциевых. Мягкая вода и кислая реакция среды препятствует нормальной линьке рачков (Бекман, 1962). Химический состав вод в местах обитания данного вида изменяется в довольно широких пределах, однако не выходит за рамки низкоминерализованных вод карбонатно-кальциевого типа. Предпочитаемая активная реакция воды от слабо-кислой до щелочной (pH 6,8-8,3). Колебания содержания основных ионов (мг/л) в местах обитания байкальской популяции следующие (по Бекман, 1962): Ca^{2+} – 10,6-14,3; Mg^{2+} – 0,1-2,7; HCO_3^- – 38-52; SO_4^{2-} – 2-18; Cl^- – 4,6-12,6.

В своих исследованиях О.И. Мицкевич (1987) показал, что содержание кальция 8-10 мг/л и соответствующая минерализация являются для *G. fasciatus* оптимальными для обменных процессов в организме, обеспечивающих выживание рачков на ранних стадиях развития. Кроме того, опыты по размножению показали, что уже в воде с концентрацией кальция 5 мг/л у самок происходила откладка яиц в выводковые сумки, нормальное развитие их и вымет жизнеспособной молоди. При меньших концентрациях данного иона в период линьки и в первые дни после сбрасывания экзувия, происходила гибель животных.

В работах Н.А. Березиной (2001) было показано влияния солености на основные жизненные процессы *G. fasciatus* (выживание, размножение, прохождение линек, темп роста молоди, сроки достижения половозрелости и

т.д.). Так, оказалось, что представители вида *G. fasciatus* способны проникать в водоемы с соленостью до 5 $^{0}/_{00}$, но для формирования устойчивых популяций она не должна превышать 2 $^{0}/_{00}$ (Березина и др., 2001).

Известно, что диапазон толерантности к солености среды обитания беспозвоночных зависит от ее температуры и существенно сужается при отклонении ее от оптимальных величин (Kinne, 1964). В экспериментальных работах было показано, что повышение температуры среды снижает устойчивость к фактору солености и выживаемость *G. fasciatus*. Это является подтверждением общей закономерности, что один фактор, находящийся за пределами оптимума, и, соответственно, требуя дополнительных затрат со стороны организма, при малейшем отклонении от оптимума другого фактора влияет на организм негативно (Вербицкий, Березина, 2001).

Амфиподы вида *G. fasciatus* устойчивы к действию температурного фактора. Представители данного вида обитают в водоемах с различным температурным режимом: от глубоких холодноводных до мелких прибрежных луж, прогревающихся летом до 30 ^{o}C и промерзающих местами до дна зимой. Верхняя летальная температура для представителей *G. fasciatus* из Байкала составляет 31,2 ºС (Бекман, 1962). По уровню предпочитаемых температур *G. fasciatus* близок к голарктическому виду *G. lacustris* – 17-18 и 15-16 ºС соответственно (Тимофеев, 2010).

Амфиподы *G. fasciatus* являются одними из немногих представителей байкальской эндемичной фауны, получивших широкое распространение за пределами Байкала. При этом распространение вида не ограничено р. Ангарой. До недавнего времени ареал вида ограничивался самим Байкалом, несколькими прибайкальскими озерами и системой рек Ангара-Енисей, связанных с Байкалом. В настоящее время вид распространен по всей длине Ангары и в Енисее (до губы). В результате зарегулирования этих рек была создана система водохранилищ, в которых *G. fasciatus* получил наибольшее развитие и доминирование по отношению к другим видам (Сафронов, 1998). Амфиподы поднимаются вверх по рекам, впадающим в Байкал (Селенга,

Баргузин, Верхняя Ангара и др.) на много километров, населяют множество пойменных и надпойменных водоемов этих рек, а также некоторые озера прибрежной полосы Байкала. Так, особенностью вида является его способность к активным миграциям, благодаря которым представители вида достигли ряда термальных источников в окрестностях Байкала (Золотой Ключ, Гусихинский, Киронский, Верхняя Заимка), в водах которых обитает в массовом количестве при постоянно высоких температурах (29 ºС) (Тахтеев, 2009).

Начиная с середины XX века, в соответствии с обоснованием Центрального акклиматизационного управления, амфипод вида *G. fasciatus* начали вселять во многие озера и водохранилища на территории СССР. В 60-х годах он был вселен в Горьковское, Новосибирское, Бухтарминское, Озернинское и Красноярское водохранилища. С 1971 по 1975 гг. – в озера Ленинградской области (Бородинское, Гусиное, Воробьево, Отрадное, Мичуринское, Снетковское, Вуокса, Судаковское, Свободное, Правдинское, Большое Бережное), а также в Ириклинское и Усть-Каменогорское водохранилища (Нилова, 1976; Архипцева и др., 1977; Грандилевская–Дексбах и др., 1978; Визер, 1981; Задоенко, 1985; Болдаруева, 1994).

В дальнейшем, обладая высокой экологической пластичностью и миграционной способностью, *G. fasciatus* активно расширял границы ареала: из Горьковского водохранилища он расселился в Чебоксарское и Куйбышевское (Бородич, 1979; Щербина, 1997, 2001), в 80-х годах достиг Рыбинского водохранилища и продолжал свое движение по рекам Волга и Шексна (Мордухай–Болтовской, Чиркова, 1971; Волков, Потина, 1977; Скальская, 1994, 1998). В 1994 г. он был обнаружен в Шекснинском водохранилище и озере Белом, а к 1997 г. *G. fasciatus* заселил Иваньковское водохранилище (верховье реки Волга). Из Бухтарминского водохранилища амфиподы *G. fasciatus* проникли в Усть-Каменогорское и Шульбинское, продолжая расселяться по р. Иртыш (Тютеньков, Козляткин, 1973; Козляткин, 1993); из Красноярского водохранилища заселил некоторые его притоки р.

Кан и р. Мана (Ольшанская и др., 1977). Из озер Ленинградской области через р. Вуокса *G. fasciatus* проник в Ладожское озеро, где был обнаружен в 1988-1990 гг. во многих точках вдоль северного и западного берегов до губы Петрокрепость (Панов, 1994). К середине 90-х годов *G. fasciatus* завершил заселение всей прибрежной зоны озера и спустился по р. Неве до пресноводной Невской губы. В августе 1999 г. вид был найден уже собственно в Балтике – на каменистой литорали мелководного района восточной части Финского залива (район пос. Репино) (Орлова и др., 1999; Финогенова и др., 1999; Panov,1999). В течение 90-х годов *G. fasciatus* проник в Онежское озеро (Панов, 1994; Березина и др., 2003; Кухарев и др., 2008). В 70-х годах 20 века в результате ряда случайных интродукций успешно акклиматизировался в Псковско-Чудском озере (бассейн реки Нарвы), куда был занесен вместе с *G. lacustris*. Вид непрерывно расширяет свой ареал, продвигаясь от мест вселения вверх или вниз по течению водотоков. Прежний самый южный предел распространения вида был ранее представлен Бухтарминским водохранилищем, Восточный Казахстан (Иофф, 1974). Первые данные о его экспансии в бассейн р. Амур были получены в 2002 г. В бассейне р. Селенга *G. fasciatus* встречен в самой реке, на участке ее дельты, в небольших слабоминерализованных озерах нижнего участка ее долины (Оронгойские озера), а также в оз. Гусиное, Бурятия (Базикалова, 1945; Базова, 2002; Матафонов, 2005).

Таким образом, *G. fasciatus* на этапе вспышки численности расселялся со скоростью 24-35 км/год, которая, вероятно, определяется степенью подвижности этого вида (Болдаруева, 1994; Базова, 2002). В.Е. Пановым (1994) был опубликован прогноз о широком распространении *G. fasciatus*, который в настоящее время уже частично оправдался. Таким образом, есть основания предполагать, что данный вид станет довольно обычным и широко распространенным обитателем в водоемах средней и северной части Палеарктики (Матафонов и др., 2005).

РОД: GAMMARUS FABRICIUS

ВИД: *Gammarus lacustris Sars*, 1869

Вид, широко распространен в Голарктике. Представители вида *G. lacustris* обитают преимущественно в стоячих водоемах, с широким спектром абиотических факторов, таких как температура, минерализация и насыщенность воды кислородом (Бирштейн, 1940; Karaman, Pinkster, 1977; Дедю, 1980; Barnard, Barnard, 1983; Karaman, 1984; Ербаева, Сафронов, 1988; Островский, 1990; Сафронов, 1993). Так, по сообщению Г.П. Сафронова (1993) в Байкальском регионе амфиподы *G. lacustris* встречается в водоемах с диапазоном pH от 6,2 до 9,2. Устойчивость к дефициту содержания кислорода, особенно при низких температурах воды позволяет представителям данного вида обитать в заморных водоемах. Ареал *G. lacustris* охватывает Азию от Ирана до низовьев р. Лена и от Урала до Амура. Встречается на Кавказе, в Карелии и в других районах Восточной и Западной Европы (Бекман, 1954; Макаренко, 2014; Коломин, 2014; Кухарев, 2008).

Спектр питания *G. lacustris* разнообразен. Будучи всеядным видом, в нормальных условиях предпочитает детрит и растительную пищу (Бекман, 1954). Размножение *G. lacustris* длится в течение всего лета (до нескольких пометов), однако сроки и динамика размножения могут варьировать в широких пределах в зависимости от конкретных условий водоема (Бекман, 1954; Нестерович, Рощин, 1988; Нестерович, 1990).

Особое отношение данный вид проявляет к температуре среды. Развитие яиц у амфипод *G. lacustris* может протекать при низких температурах (3-4 ºС и ниже), однако для роста молоди необходима температура не ниже 8-10 ºС. Созревание яиц у *G. lacustris* происходит фактически в течении всего года, но с определенной сезонной ритмикой.

Данный вид отличается необычайно широкой приспособленностью к существованию в водоемах с разной минерализацией. В работе Блабановой А.Я. (1949) отмечено, что *G. lacustris* широко распространен в группе Западно-Сибирской низменности и обитает в водоемах с соленостью приближающейся

к 10 $^{0}/_{00}$. Дексбахом Н.К. (1951) данный вид амфипод характеризуется, как эвригалинный.

В Байкальском регионе данный вид широко распространен в многочисленных мелководных водоемах, окружающих Байкал (Бекман, Базикалова, 1951). В самом озере *G. lacustris* встречается только в нескольких закрытых заливах и сорах, таких как Ангарский, Посольский и Истокский соры, залив Провал, Чивыркуйский залив, губа Крутая и Крохалинная (Сафронов, 1984). Нахождение и распределение данного рачка в прибрежно-соровой зоне, бухтах и заливах Байкала зависит главным образом от степени их связи с открытым Байкалом, определяющей их гидрологический, химический и температурный режимы, а также от возможности проникновения байкальской фауны амфипод. Так, в прибрежно-соровой зоне Северного Байкала и хорошо изолированном мелководном (до 5 м) Северобайкальском соре *G. lacustris* обитает в массовом количестве (Черепанов и др., 1977). В Посольском, Истокском сорах и заливе Провал, соединяющихся с Байкалом широкими прорвами, данный вид встречается значительно реже, чем байкальские виды (Снимщиков, 1977).

В открытом Байкале *G. lacustris* не встречается, что многие исследователи отмечают в контексте проблемы несмешиваемости байкальской и общесибирской фауны. Главными и определяющими факторами этого, вероятно, являются низкая температура воды в оз. Байкал, особенности гидрохимического состава, а также конкуренция с высокоразвитой фауной эндемичных видов. Однако и по сей день остается нерешенным ряд вопросов: не ясно, почему *G. lacustris* широко распространен в оз. Хубсугул, температурный режим которого схож с оз. Байкал (Сафронов и др., 1986), а также что мешает обитать данному виду в заливных частях Ангарских водохранилищ, удовлетворяющих всем требованиям данного вида по температурным условиям. При этом если для каких-то мест его отсутствие можно объяснить географической изоляцией, то во время создания Ангарских водохранилищ он попадал в них из прежних мест обитания, которые

постепенно заполнялись водами водохранилища (Сафронов, 1993). Влияние конкуренции со стороны байкальских эндемиков, также довольно ограничено, т.к. практически во всех соровых заливах Байкала *G. lacustris* существует совместно с представителями коренных видов амфипод (Снимщиков, 1977; Черепанов и др., 1977). Зафиксированы как случаи совместного обитания и в ряде других сибирских озер (Сафронов, 1993), так и случаи его полного вытеснения интродуцированным *G. fasciatus* в ряде прибалтийских озер (Timm, Timm, 1993; Скальская, 1994, 1996, 1998, 2008).

2.2 Характеристика мест сбора амфипод *G. fasciatus* и *G. lacustris*

Амфипод вида *G. fasciatus* отлавливали в прибрежной зоне трех различных по гидрохимическим характеристикам водоемах: озеро Байкал (пос. Большие Коты, N 51°54.25', E 105° 04.14'), озеро Ладожское (N 59°97'28.32", E 31°06'84.08") и Финский залив (N 60°08'95.18", E 29°91'93.43"). Также в работе использовали представителей двух популяций *G. lacustris*, населяющих оз. Шира (Республика Хакасия, Восточная Сибирь, N 54°29'7.25", E 90°12'1.49") и заводь р. Ангара (Восточная Сибирь, N 52°16'4.71", E 104°16'52.77"), в непосредственной близости к р. Ангара. Сбор представителей вида *G. lacustris* из пресноводной популяции и представителей *G. fasciatus* проводили с глубины 0,2-0,7 м с использованием гидробиологического сачка. Амфипод *G. lacustris* из оз. Шира отлавливали с глубины 7 м при помощи планктонной сети. Для определения амфипод был использован определитель В.В. Тахтеева (1993).

Ниже представлена карта (рис. 1), сводная таблица средних концентраций основных ионов (табл. 1) и физико-географические характеристики водоемов, где производили сборы исследуемых видов.

Рисунок 1. Места сбора амфипод видов *G. fasciatus* (оз. Байкал, оз. Ладожское, Финский залив) и *G. lacustris* (заводь р. Ангара, оз. Шира) (https://de.wikipedia.org/wiki/Datei:Pskov_in_Russia.svg).

Таблица 1.

Среднии концентрации основных ионов и общая минерализация воды (мг/л) в местах сбора амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris*.

Название водоема	**HCO_3^-**	**SO_4^{2-}**	**Cl^-**	**Ca^{2+}**	**Mg^{2+}**	**Na^+**	**K^+**	**∑ ионов**	**Ссылка**
оз. Ладожское	29,4	10,3	6,4	9,1	2,7	4,3	1,4	63,6	Ладожское озеро..., 2002
оз. Байкал	66,5	5,2	0,6	15,2	3,1	3,8	2,0	96,7	Верещагин, 1949; Вотинцев, 1961; Галазий, 1987
Финский залив (Невская губа)	0,58	24,2	17,4	12	12	83	4,5	186	Купцова, 2016
оз. Шира	998	8010	2100	51	1080	2880	37	16600	Kalacheva et al., 2002
заводь р. Ангара	223	105	55.8	48.1	35.7	47.6	1.6	53	по собственным данным

Физико-географическая характеристика озера Байкал

Озеро Байкал является одним из крупнейших и старейших пресных водоемов земного шара. Возраст озера принято оценивать в 25-30 млн. лет (Флоренсов, 1978; Палеолимнологические реконструкции…, 1989; Logatchev, 1993; Mats, 1993). Благодаря своим размерам и глубине озеро содержит

наибольшие мировые запасы поверхностных пресных жидких вод (до 20 %) (Kozhova, Izmesteva, 1998; Русинек и др., 2012).

Озеро расположено на северо-востоке Центральной Азии, на высоте 454 м над уровнем моря. Длина озера составляет 636 км, а ширина 47 (25 – 80) км. Общая площадь озера Байкал составляет 31500 км^2. Средняя глубина озера – 731 м, а максимальная отмечена на 1642 м (район среднего Байкала) (Атлас, 1995; Русинек и др., 2012).

Температура в эпилимнионе летом редко превышает 12–14 °С, понижаясь с глубиной (выше 50 м) до 10–12 °С. Суточные колебания температуры воды в озере наблюдаются до глубин 10–12 м; сезонные колебания температуры преимущественно наблюдаются до 200 м. Ниже слоя температурного скачка (50-250 м в зависимости от сезона) температура в озере стабильна в течение года и составляет около 4 °С. На мелководьях и в сорах в летнее время вода прогревается до 17–18 °С и 22–24 °С соответственно (Россолимо, 1957; Кожов, 1962, 1972; Галазий, 1987). Среднегодовая температура на поверхности озера составляет около 4 °С (Галазий, 1987).

На температурный режим озера влияют горизонтальная и вертикальная циркуляция вод. В сезонной смене температуры воды в озере различают следующие основные периоды: 1) подледный, который начинается с момента установления сплошного ледяного покрова; 2) период весеннего прогревания, начинающийся от момента разрушения ледяного покрова до прогревания верхних слоев воды выше 4 °С; 3) период летнего прогревания от конца весеннего до начала осеннего охлаждения поверхностных слоев воды; 4) период осеннего охлаждения – до установления ледяного покрова (Галазий, 1978; Кожов, 1962, 1972; Россолимо, 1957).

Вода озера содержит большое количество растворенного кислорода. Так, насыщение воды кислородом в поверхностных слоях близко к 100 % и не опускается, даже на максимальных глубинах, ниже 80 %. В зимнее время насыщение воды кислородом подо льдом сохраняется на таком же высоком уровне. В ходе суточных и годовых циклов содержание кислорода в

байкальской воде изменяется незначительно и в поверхностных слоях воды составляет в среднем 11,7–11,9 мг/л, а на глубине 1400 м – 9,9–10,6 мг/л (Вотинцев, 1961; Галазий, 1987).

Общая минерализация воды в оз. Байкал составляет составляет 96,7 мг/л. Вода в Байкале относится к слабоминерализованным мягким водам гидрокарбонатного класса, группы кальция первого типа (Галазий, 1987).

Химический состав воды в Байкале сравнительно однородный, потому что вся водная толща интенсивно перемешивается как ветровыми течениями, так и постоянной циркуляцией (Галазий, 1987).

В то же время в озере существует ряд мест (прибрежно – соровых зон), в которых гидрохимические и температурные условия отличаются от типично байкальских. Условия в данной зоне приближены к условиям типичных мелководных водоемов Восточной Сибири. В них отмечается выраженный градиент содержания кислорода, повышенное содержание растворенных органических веществ. Вода в таких районах может прогреваться выше 23 °С. Из наиболее крупных представителей данной зоны можно отметить следующие байкальские заливы: Северобайкальский сор, Посольский сор и Чивыркуйский залив. По своим гидрохимическим характеристикам и населяющих их флоре и фауне они могут быть отнесены к типичным водоемам общесибирского типа.

Физико-географическая характеристика Ладожского озера

Ладожское озеро является крупнейшим пресноводным водоемом Европы. Его площадь составляет 18 134 км^2, из которых 457 км^2 приходится на долю островов. Водоем расположен на северо-западе европейской части России между 59° 54' и 61° 47' северной широты и 29° 48' и 32° 58' восточной долготы от Гринвича. Наибольшая ширина озера составляет 125 км. Средняя глубина озера равна 46,9 м, а максимальная - 230 м (Науменко, 1995). Длина материковой береговой линии составляет 1 570 км (Попов, 1961; Черняева, 1966).

Озеро лежит на стыке Балтийского кристаллического щита и Русской платформы и довольно четко делится на северную и южную части, отличающиеся характером берегов и формой котловины. На протяжении всего времени своего формирования с момента отступления ледника (около 11,8 тыс. лет назад) Ладожское озеро было пресноводным водоемом, и морские воды не проникали в него (Квасов, 1975). Сток из озера осуществляется в Финский залив через р. Неву, вытекающую из мелководной бухты Петрокрепость в юго-западной части озера (Нежиховский, 1955).

Годовой термический цикл озера, по результатам А.И. Тихомирова (1964), состоит из четырех периодов: весеннего нагревания, летнего прогревания, осеннего и зимнего охлаждения. В летнее время в озере, как правило, наблюдается резкая термическая стратификация с хорошо выраженным слоем скачка. Температура воды в период максимального нагрева (август) достигает в эпилимнионе 15-18 ^{o}C, а в гиполимнионе остается около 4 ^{o}C. Слой скачка лежит в открытом озере примерно на глубине 10-12 м. Так, в периоды весеннего нагревания (с начала мая) и осеннего охлаждения (с начала ноября) в озере существует термобар за счет смешения вод с температурой выше и ниже температуры наибольшей плотности (4°C) (Тихомиров, 1961, 1963, 1964). Термический бар, в свою очередь, разделяет озеро на теплоактивную и теплоинертную области и затрудняет горизонтальный водообмен. Замерзание озера, как и прогревание, происходит медленно, а в мягкие зимы центральная часть озера остается свободной от сплошного ледяного покрова (Тихомиров, 1963; Науменко и др., 2000).

Ладожское озеро имеет мягкую маломинерализованную воду. По ионному составу вода озера относится к гидрокарбонатно-кальциевому классу (Алекин, 1954). Общая минерализация воды составляет около 64 мг/л.

Гидрохимический состав воды Ладожского озера определяется главным образом геологическим строением и составом пород, слагающих его, а также физико-географическими условиями озерного водосбора (Расплетина и др., 1967). Главная роль в формировании химического состава озера принадлежит

озерному стоку, который дает 86 % приходной части водного и свыше 95 % химического баланса озера (Соловьева, 1967). Минерализация воды сопоставима со средней минерализацией воды главных притоков озера, таких как реки Свири, Вуоксы и Волхов.

Физико-географическая характеристика Финского залива

Финский залив является восточной частью Балтийского моря. Его площадь составляет 30 000 км². Длина залива от Невской губы до меридиана Дагерорта составляет 420 км. Глубина Финского залива в среднем составляет 36–40 м, наибольшая ширина составляет 130 км. Самое глубокое место залива находится на юго-востоке от острова Кери и составляет 121 м.

В восточной части Финского залива Балтийского моря выделяют: Невскую губу – пресноводную и мелководную (средняя глубина 3,5-4 м), верхнюю часть внутреннего эстуария; внутренний эстуарий – мелководный район на востоке Финского залива (до 25 м), или нижняя часть внутреннего эстуария, с соленостью поверхностных вод 1,5—5 г/л; внешний эстуарий – глубоководный (до 45 м) район на востоке Финского залива с соленостью поверхностных вод 3-8 г/л.

Воды Невской губы перемешиваются до дна, наблюдается отсутствие выраженного сезонного термоклина, а также имеет место относительная вертикальная однородность течений. Прогрев в весенний период и охлаждение осенью в зоне мелководья происходит намного быстрее, чем в открытой глубоководной части. Таким образом, в весенний и осенний периоды в зоне литорали можно наблюдать термический бар, в котором горизонтальные градиенты температуры воды достигают 0,5-1,0 ^{o}C /км (Экосистемные модели..., 1997).

Температура воды на поверхности в течении года непосредственно зависит от температуры воздуха. Так, в январе-марте температура воды в восточной части залива близка к 0 ^{o}C, а в центральной и западных частях

составляет в среднем 0-2 ^{o}C. В летний период температура воды в восточной части залива прогревается до 18-20 ^{o}C, достигая своего максимума.

Финский залив является одним из самых эвтрофированных подбассейнов Балтийского моря, что, приводит не только к ухудшению органолептических характеристик воды, изменению pH, повышению содержания железа, метана и сероводорода, в результате чего вода становится токсичной, но и ведет к заморным явлениям (Lundberg, 2005).

Река Нева, впадающая в залив, влияет на гидролого-гидрохимический режим Финского залива. В его восточной части формируется один из крупнейших эстуариев Балтийского моря с градиентом солености воды от 0,05 до 8,5 г/л. Невская губа отделена от остальной акватории искусственно сооруженными дамбами комплекса защитных сооружений г. Санкт-Петербурга от наводнений. Она является пресноводной, с содержанием солей в воде 0,05−0,5 г/л (Нежиховский, 1988; Кудерский и др., 2000).

В эстуарии р. Невы выделяют несколько геохимических барьеров. Первый геохимический барьер расположен в месте впадения р. Невы в Невскую губу, где оседает основная доля крупнодисперсной фракции с мигрирующими речными водами. Второй геохимический барьер расположен в Невской губе, в месте где возникает изменение соотношения основных анионов SO_4^+ Cl^-/HCO_3^-, при этом соленость воды не изменяется. Именно в зоне этого барьера наблюдаются образования флоккул гидроксидов Al, Fe, Mn и органического вещества. После строительства дамбы в 80-х годах XX века века во внутреннем эстуарии начинается наиболее активное перемешивание морских и речных вод. Возникает третий, комплексный, геохимический барьер, включающий в себя механический (гидродинамический), возникающий благодаря резкому падению скорости течения, и физико-химический, который возникает в результате увеличения солености воды. Таким образом, к западу от о. Котлин оседает основная часть взвешенных частиц. Четвертый геохимических барьер формируется в западной части

внешнего эстуария и отделяет эстуарий р. Невы от открытой части залива (Рыбалко, Федорова, 2008).

Физико-географическая характеристика озера Шира

Озеро Шира расположено в Чебаково-Балахтинской котловине Ширинской озерно-котловинной степи Июсо-Ширинского (Северо-Хакасского) степного округа. Юго-восточная часть озера принадлежит Государственному природному заповеднику «Хакасский». Площадь водного зеркала озера 36 км^2, длина – 9,35 км, максимальная глубина достигает 22 м, средняя глубина озера – 11 м (Водные ресурсы…, 1999). Озеро располагается на месте синклинали, преобразованной эрозионными процессами. Донные осадки представлены плитами, щебнем, крупнозернистым и илистым песком, черными сероводородными глинистыми илами. Отличительной чертой озера выступает наличие постоянного (неперемешиваемого) аноксигенного гиполимниона. Градиент температур между верхними и нижними слоями воды в период летней стратификации достигает 20 °С, максимальная температура – 24 °С и выше (Mooij et al., 2010).

По составу озерная вода является сульфатно-хлоридной, натриево-магниевой (Путеводитель по природным водам…, 2005). Основными катионами в озере являются Na, Mg, Ca. Реакция воды щелочная (pH 8,9-9,2). Минерализация воды меняется как от времени года, так и по периодам года, по площади и глубине (Клопотова, 2004; Кусковский, 1989). Вблизи впадения в озеро р. Сон наблюдаются минимальные содержания растворенных солей (на 3-4 г/л ниже средних значений). С увеличением глубины степень минерализации повышается на 6-9 г/л, достигая максимального значения 30 г/л (Жемчужина Хакасии…, 1997).

Физико-географическая характеристика заводи р. Ангара

Река Ангара – единственный поверхностный сток оз. Байкал. Вода истока р. Ангары отражает средний химический состав воды озера. Однако,

изменение первоначального (байкальского) состава вод р. Ангары происходит под воздействием ряда природных факторов, таких как влияние притоков, атмосферных осадков и поступление грунтовых вод. Также значительный вклад в гидрохимический состав реки вносит антропогенная составляющая — промышленные и бытовые сточные воды городских агломераций, поверхностный сток с сельскохозяйственных угодий и др. (Алиева, Загорулько, 2013).

На участке р. Ангары от истока до г. Иркутска располагается Иркутское водохранилище, являющееся первой ступенью Ангарского каскада гидроэлектростанций. Водохранилище пролегает в направлении с юго-востока на северо-запад, и его общая протяженность составляет 54 км. Почти четверть ее приходится на заливы и мелководья. Береговая линия водохранилища, длина которой около 250 км, сильно изрезана и образует около 40 заливов и бухт. Большинство заливов длинные и узкие, глубиной более 2-3 м. Максимальная летняя температура в верхней части водохранилища составляет 11-14 °С и обычно на 2-3 градуса ниже, чем в нижней части. В заливах в период наибольшего прогрева вод (июль-август) температура может достигать 18-20 °С. Вода слабо минерализована, содержание кислорода почти всегда близко к 100 % насыщению. Режим биогенных элементов зависит от Байкала, концентрации их невысоки, водохранилище относится к водоемам олиготрофного типа (Ермолаева, 2008).

Заводь р. Ангара, где непосредственно производился сбор амфипод вида *G. fasciatus*, характеризуется слабой минерализацией и неустойчивым газовым режимом. Глубина водоема составляет около 2 м. В летний период вода хорошо прогревается (до 25 °С и выше), зимой же водоем может промерзать практически до дна.

2.3 Методика содержания амфипод

Амфипод содержали раздельно по видам, в аэрируемых аквариумах, при температуре 6 ± 0,5 °С. В качестве корма использовали кормовую смесь из

сушеных водорослей и амфипод, взятых из мест обитания исследуемой популяции. Предварительные исследования показали, что максимально возможный срок содержания рачков в данных условиях составляет более двух лет. При длительном содержании отмечали высокую активность амфипод, рост и размножение. Таким образом, можно сказать, что условия содержания не являлись для амфипод стрессовыми. В экспериментах использовали здоровых и активно плавающих рачков, акклимированных в лабораторных условиях 3 суток.

2.3.1 Методика проведения экспериментов

Экспозицию амфипод проводили в соответствии с методикой экспериментальной акклиматизации, рекомендованной Pörtner, Knust (2007). В ходе исследования проводили 3 типа экспериментов: первый – экспозиция амфипод в условиях постепенного повышения температуры среды от 6 °С (принимаемой за контрольный показатель) до температуры, при которой отмечали гибель 100 % особей; второй – экспозиция в условиях постепенного понижения температуры среды от контрольного уровня (6 °С) до минимальных положительных температур (0,5 °С); третий – суточная экспозиция в условиях острого температурного шока в температуре при которой отмечали гибель 50 % особей за сутки. Для представителей вида *G. fasciatus* эта температура составила 28 ºС, а для амфипод *G. lacustris* – 30 ºС. Скорость изменения температуры для первого и второго типов эксперимента составила 1 °С $ч^{-1}$. Эксперименты проводили в цифровом ультратермостате WiseCircu Wcr6 (Daihan, Корея). Организмов контрольной группы для всех экспериментов содержали в условиях, аналогичных предварительной акклимации – 6 ±1 ºС. Во время проведения экспериментов через определенные промежутки времени живых амфипод фиксировали в жидком азоте для последующего биохимического анализа.

У амфипод обоих видов степень изменения содержания лактата, глюкозы, гликогена, активности ферментов каталазы, пероксидазы, глутатион

S-трансферазы, содержания БТШ70 и продуктов ПОЛ измеряли после 3 ч (при 9 °С), 5 ч (при 11 °С), 7 ч (при 13 °С), 9 ч (при 15 °С), 11 ч (при 17 °С), 13 ч (при 19 °С), 15 ч (при 23 °С), 17 ч (при 25 °С), 19 ч (при 27 °С), 21 ч (при 29 °С), 23 ч (при 31 °С), 24 ч (при 33 °С) экспозиции в случае экспериментов по оценке влияния постепенного повышения температуры среды. После 1 ч (при 5 °С), 2 ч (при 4 °С), 3 ч (при 3 °С), 4 ч (при 2 °С), 5 ч (при 1 °С), 5,5 ч (при 0,5 °С) экспозиции в случае экспериментов по оценке влияния постепенного понижения температуры среды. В случае экспериментов по оценке влияния острой гипертермии на представителей вида *G. fasciatus* после 1, 3, 6, 12 и 24 часов при экспозиции в температуре 28 °С и после 0,5, 1, 3 и 6 часов при экспозиции в температуре 30 °С для представителей вида *G. lacustris*.

2.4 Методы биохимического анализа

2.4.1 Определение содержания энергетических метаболитов

2.4.1.1 Подготовка проб для определения содержания энергетических метаболитов

Для определения содержания энергетических метаболитов (лактата, глюкозы, гликогена) амфипод целиком растирали в жидком азоте до состояния мелкодисперсного гомогенного порошка. К небольшому количеству полученного гомогената добавляли раствор 0,6 М $HClO_4$ с 15 мМ этилендиаминтетраацетатом натрия (Na-ЭДТА) из расчета 1500 мкл $HClO_4$ - Na-ЭДТА на 100 мг сырого веса. Полученную кислоторастворимую фракцию центрифугировали при 10 000 g в течение 30 минут при температуре 4 °С. Надосадочную жидкость отбирали и нейтрализовали 5М K_2CO_3 из расчета 70 мкл на 1 мл супернатанта (pH 7,5). Нейтрализованный экстракт инкубировали на холоде 60 минут для осаждения перхлоратов, после чего повторно центрифугировали при 10 000 rpm в течение 15 минут при температуре 4 °С. Из полученного супернатанта отбирали аликвоты и хранили в жидком азоте до момента определения содержания низкомолекулярных энергетических метаболитов в образцах.

Анализ подготовленных проб проводили на спектрофотометре Cary 50 Conc UV/visible spectrophotometer (Varian, USA) при длине волны 340 нм согласно методикам Grieshaber et al. (1987), Bergeymer (1985) с модификациями Ivanina et al. (2010) и Sokolova et al. (2012).

2.4.1.2 Определение содержания лактата

Содержание лактата (L-лактата) определяли энзиматическим спектрофотометрическим методом с помощью стандарт-набора Лактат-Витал согласно протоколу фирмы-производителя (Vital Development, СПб, Кат. № В 19.01) с модификациями (Павличенко и др., 2009). Набор реагентов относится к серии «Витал-Европа» и соответствует международным требованиями (DGKC).

Принцип метода заключается в том, что при воздействии лактатоксидазы из лактата и кислорода образуется пировиноградная кислота и пероксид водорода, количественно равные присутствующему лактату. В процессе взаимодействия 4-аминоантипирина и п-хлорфенола с пероксидом водорода (в присутствии пероксидазы) образуется хинониминовый продукт красного цвета с максимумом поглощения в области 505 нм.

$$\text{Лактат} + O_2 \xrightarrow{\text{ЛО}} \text{пируват} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{ААП} + \text{п-хлорфенол} \xrightarrow{\text{ПР}} \text{ХОП} + H_2O$$

$$\text{Лактат}\left[\frac{\text{мкМоль}}{\text{г. сыр. веса}}\right] = 0{,}66 * \frac{\text{Abs}_{\text{оп}}^{\text{ср}}}{\text{Abs}_{\text{кал}}^{\text{ср}}} * \frac{\text{V}}{\frac{\text{W}}{1000}} \qquad (5)$$

где: ЛО – лактатоксидаза; ПР – пероксидаза, Abs ср (оп) – изменение оптической плотности опытного раствора, Abs ср (кал) – изменение оптической плотности раствора с известной концентрацией; V – объем добавленного экстрагирующего буфера (мкл); W – вес (мг) образца; 1000 – коэффициент перевода; 0,66 – концентрация калибровочного раствора (мМоль/л); ХОП – хинониминовый окрашенный продукт. Концентрацию

лактата определяли с помощью калибровочной прямой, построенной с использованием стандартного раствора лактата (производитель – Vital Development, СПб).

2.4.1.3 Определение содержания глюкозы и гликогена

Содержание глюкозы определяли в результате реакции образования 6-фосфоглюконо-d-лактона из глюкозы и АТФ в присутствии ферментов глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (0,462 ед/мл, Roche, кат. № 127 035) и гексокиназы (1,8 ед/мл, Roche, кат. № 1 426 362). Для определения содержания депонированной в гликогене глюкозы нецентрифугированный гомогенат, полученный при растирании образцов в жидком азоте, был подвержен ферментативному гидролизу в присутствии амилогликозидазы (10 kU, Sigma, кат. № 10113–5G) при температуре 40 °C на термошейкере (Biosan) в течение 2х часов, согласно методикам Morris et al. (2005), Ivanina et al. (2010) и Sokolova et al. (2012). Для прекращения гидролиза и доведения значения pH до 7,2–7,5 в анализируемую пробу добавляли 0,6 M $HClO_4$ и 1 M $KHCO_3$. Центрифугированием при 13 000 rpm в течении 10 минут при 4 °C был получен экстракт, содержащий гидролизованный гликоген. Измерение содержания глюкозы проводили в реакционной смеси, содержащей 300 мМ TEA (триэтаноламин) буфер, 91 мМ АТФ, 6 мМ НАДФ, в кварцевых кюветах при температуре 37 °C. Количество $НАДФН_2$, образующегося в ходе данной реакции, пропорционально количеству глюкозы.

$$\text{АТФ} + \text{Глюкоза} \xrightarrow{\text{ГК}} \text{Глюкозо 6 фосфат} + \text{АДФ}$$

$$\text{Глюкозо 6 фосфат} + \text{НАДФ}^+ \xrightarrow{\text{Г6ФДГ}} \text{6 фосфоглюко-}\delta\text{-лактон} + \text{НАДФН} + \text{H}^+ \qquad (6)$$

ГК – гексокиназа; Г6ФГД – Глюкозо – 6 – фосфатдегидрогеназа.

Вычисление содержания глюкозы (в мкМоль/г. сыр. веса) проводили по формуле:

$$C\left[\frac{\text{мкМоль}}{\text{г.сыр.веса}}\right] = \left(\frac{\left(\frac{Abs*1000}{6,31*V}*\frac{Fw}{1000}\right)*1000}{DF}\right) \quad (7)$$

где Abs – изменение оптической плотности опытного раствора; 6,31 – коэффициент молярной экстинкции НАДФ (см^3/мкМоль); Fw – вес образца и экстрагирующего буфера (процент содержания воды – 80 %); V – объем анализируемого (добавленного) образца (мкл); 1000 – коэффициенты перевода; DF – коэффициент (фактор) разбавления.

2.4.2 Определение содержания БТШ

2.4.2.1 Выделение общего белка

Для выделения общего белка образцы амфипод целиком растирали в 0,1 М Трис-HCl буфере (pH 7,6), с добавлением фенилметилсульфонил флуорида (ФМСФ - PMSF, Amresco, кат. № Am O754-5,0) и коммерческого ингибитора протеаз (Amresco, кат. № Am. N – 221 – 1,0). Полученный гомогенат центрифугировали 15 минут при 7 000 rpm при температуре 4 °С. Супернатант отбирали, часть использовали для определения концентрации белка по методу М. Бредфорд. Другую часть растворяли в 0,5 М Трис-HCl буфере для образца pH 6,8 (в соотношении 1:1), содержащем 10 % додецилсульфата натрия (ДДС-Na, Amresco, кат. № Am –O227-0,1), 1 мМ ЭДТА (Amresco, кат. № Am –O105-0,5), 20 % глицерина, 10 % ß-меркаптоэтанола (Amresco, кат. № Am –0482-0,1) и 0,06 % бромфенолового синего (Amresco, кат. № Am –0312-5,0) и инкубировали в течение 5 минут при 95 °С. Приготовленные образцы хранили при -20 °С.

2.4.2.2 Определение концентрации белка по методу М. Бредфорд

Метод основан на колориметрическом определении окрашенного продукта реакции красителя кумасси (Coomassie) с аргинином и гидрофобными аминокислотными остатками. Образующийся продукт имеет максимум светопоглощения при 595 нм. Метод используется для определения

концентрации белка в пределах от 2 до 120 мкг/мл. Для определения концентрации белка использовали готовый реагент Бредфорд (BioRad, кат. № 5000205). Для измерения образец белка смешивали с реагентом Бредфорд в соотношении 1:49, дожидались развития окраски в течении 10 минут и проводили измерение при 595 нм в одноразовых пластиковых полистироловых кюветах (Brand, кат. № 759150). Концентрацию белка в образце рассчитывали исходя из уравнения калибровочного графика (Bradford, 1976). В качестве стандарта при построении калибровки был использован бычий сывороточный альбумин.

2.4.2.3 Электрофорез белков в полиакриламидном геле

В работе использовали стандартный метод денатурирующего электрофореза с ДДС-Na в полиакриламидном геле, который проводили в блоках полиакриламидного геля размером 70x80x1 мм в модифицированной системе Лэммли (Laemmli, 1970), используя прибор для электрофореза Mini-Protean II Electrophoretic Cell (Bio-Rad, США). Для проведения анализа использовали 12,5 % полиакриламидный разделяющий гель. Электрофорез проводили в 25 мМ Трис-буфере, содержащем 195 мМ глицин (Amresco, кат. № Am. O167– 0,5) и 0,1 % ДДС-Na (Побежимова и др., 2004).

В карманы геля наносили белковые образцы, предварительно выровненные по концентрации общего белка. В течение первых 30 минут для концентрации белков на границе концентрирующего и разделяющего гелей электрофорез проводили при постоянном напряжении 65 В. После вхождения белков в нижний гель напряжение повышали до 165 В. Электрофорез продолжали до тех пор, пока бромфеноловый синий не доходил до конца гелевого блока.

2.4.2.4 Иммуноблоттинг

Перенос белков после их электрофоретического разделения на PVDF-мембрану проводили в Towbin-буфере (25 мМ трис, 192 мМ глицин, 10 % метанол, pH 9,2) при температуре 4-8 °С и постоянной силе тока 200 мА в течение первых 30 минут и 400 мА в течение следующих 2 часов. После переноса белков PVDF-мембрану помещали в блокирующий раствор (2 % сухого обезжиренного молока в растворе TBS) и инкубировали в течение 12 часов в холоде, после чего сливали блокирующий раствор и заливали мембрану раствором первичных антител с последующей инкубацией на качалке от 1 до 3 часов (в зависимости от свежести антител). Первичные антитела сливали и промывали мембрану от несвязанных антител отмывочным буфером (TTBS), содержащим Tween-20 (Sigma, Кат. № P 9416), два раза по 10 минут. После этого мембрану помещали в раствор вторичных антител и инкубировали 1-2 часа на качалке. В работе для определения содержания БТШ70 использовали первичные анитела: моноклональные антитела (monoclonal anti-heat shock protein 70, produced in mouse, Sigma Chemical Co, № H5147), специфичные к БТШ70 (антиген - БТШ70 из бычьего мозга), разбавленные 1:10000, а также моноклональные антитела специфичные к β-актину (polyclonal Anti-Actin antibody produced in rabbit, Sigma Chemical Co, № A2668) разбавленные 1:400 для нормализации уровня содержания БТШ70. В качестве вторичных антител использовали Anti-Mouse IgG:AP Conj (Stressgen, № SAB-101), разбавленные 1:1000 для визуализации БТШ70 и Anti-Rabbit IgG (Sigma, Chemical Co № A9919) разбавленные 1:1000 для визуализации β-актина (Arad et al., 2010; Bedulina et al., 2013).

После инкубации мембрану вновь отмывали в буфере TTBS от несвязанных антител два раза по 10 минут. После отмывки мембрану помещали на 5 минут в буфер pH 9,5, а затем заливали раствором красителя - BCIP (Sigma, Кат. № B 6149) + NBT (Sigma, Кат. № N 6876), приготовленным в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя. Мембраны инкубировали в растворе красителя до появления окраски. После окрашивания

мембраны сушили при комнатной температуре в темноте и сканировали при высоком разрешении. Денсиометрический анализ содержания белка проводили с помощью программы ImageJ v.1.41 (Schneider et al., 2012).

2.4.3 Определение активности ферментов антиоксидантной системы

2.4.3.1 Выделение образцов и пробоподготовка

Для определения ферментативной активности необходимое количество замороженных образцов (100-300 мг) растирали в натрий-фосфатном буфере (Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 0,1 М, pH 6,5) на льду в стеклянных гомогенизаторах Поттера-Эльвейема. Для получения гомогената использовали специфическое соотношение веса биоматериала и натрий-фосфатного буфера - 1:3 (мг:мкл). Полученный гомогенат центрифугировали при 10 000 g в течение 3 минут при температуре 4 °С. Супернатант использовали для определения активности ферментов.

2.4.3.2 Определение активности каталазы

Активность каталазы определяли согласно методу H. Aebi (1984) с модификациями Timofeyev et al. (2009). Принцип методики определения активности каталазы заключается в измерении количества перекиси водорода, утилизированного свободными каталазами биологического экстракта за единицу времени. Определение проводили спектрофотометрическим методом при температуре 25 °С, длине волны 240 нм и pH 7,0.

Активность каталазы рассчитывали исходя из количества утилизированной перекиси водорода в минуту, в пересчете на удельную активность.

Расчет производили по формуле:

$$\text{Удельная активность каталаз}\left(\frac{\text{нКат}}{\text{мг}}\right) = \frac{\frac{Abs}{3}*1375*1000}{\frac{25*0{,}0361*\text{белок}}{60}} \qquad (8)$$

где: Abs/3 – изменение оптической плотности опытного раствора за 1 минуту измерения; 1375 – объем натрий-фосфатного буфера, содержащего перекись водорода; 25 – объем добавленного биологического экстракта; белок – содержание белка в образце (мг/мл); 1000 – множитель для приведения в соответствие единиц измерения; 0,0361 – коэффициент молярной экстинкции перекиси водорода; 60 – время реакции, в секундах. Содержание суммарного белка в пробе определяли по методу М. Бредфорд (Bradford, 1976).

2.4.3.3 Определение активности пероксидазы

Активность пероксидазы определяли согласно методике Drotar et al. (1985) с модификациями Timofeyev et al. (2009). Методика определения активности пероксидазы основана на способности фермента утилизировать перекись водорода в присутствии доноров электронов. При этом используемый в анализе в качестве субстрата гваякол образует окрашенный продукт – тетрагваякол, содержание которого измеряется спектрофотометрически. Определение проводили при температуре 25 ^{o}C, длине волны 436 нм и pH 5,0.

$$4\ \text{гваякол} + 4H_20_2 \xrightarrow{\text{Пероксидаза}} \text{Тетрагваякол} + 8H_20 \qquad (9)$$

Расчет активности пероксидазы производили по уравнению, в пересчете на удельную активность:

$$\text{Удельная активность пероксидазы}\ \left(\frac{\text{нКат}}{\text{мг}}\right) = \frac{\frac{Abs}{3}*1000*980}{\frac{40*25,5*\text{белок}}{60}} \qquad (10)$$

где: Abs/3 – изменение оптической плотности опытного раствора за 1 минуту измерения; 980 – объем натрий-фосфатного буфера, содержащего мМ перекись водорода и гваякол; 40 – объем добавленного биологического экстракта; 1000 – множитель для приведения в соответствие единиц измерения; 25,5 – микромолярный коэффициент экстинкции тетрагваякола (см^2/мМ); белок – содержание белка в образце (мг/мл); 60 – время реакции, в

секундах. Содержание суммарного белка в пробе определяли по методу М. Бредфорд (Bradford, 1976).

2.4.3.4 Определение активности глутатион S-транферазы

Метод основан на ферментативном связывании глутатиона с 1-хлор-2,4-динитробензолом с образованием S-(2,4-динитрофенил)-глутатиона, имеющего максимум светопоглощения при длине волны 340 нм (Habig et al., 1974; Timofeyev et al., 2009).

$$\text{глутатион} + \text{ХДНБ} \xrightarrow{\text{ГСТ}} \text{S-(2,4-динитрофенил)-глутатион} \qquad (11)$$

Активность глутатион S-транфераз определяли по следующей формуле:

$$\text{Удельная активность ГСТ} = \frac{\frac{Abs}{3}*1000*1220}{\text{Prot}*40*9{,}6*60} \qquad (12)$$

где: Abs/3 – изменение оптической плотности опытного раствора за 1 минуту измерения; 1120 - объем натрий-фосфатного буфера; содержащего глутатион и 1-хлор-2,4-динитробензол1000 – множитель для приведения в соответствие единиц измерения; 40 – объем добавленного биологического экстракта; 9,6 – микромолярный коэффициент экстинкции S-(2,4-динитрофенил)-глутатиона (см^2/мМ); 1000 – множитель для приведения в соответствие единиц измерения; Prot – содержание белка в образце (мг/мл); 60 – время реакции, в секундах. Содержание суммарного белка в пробе определяли по методу М. Бредфорд (Bradford, 1976).

2.4.4 Определения уровня перекисного окисления липидов

Метод основан на установлении содержания продуктов ПОЛ в гомогенате образца по поглощению липидным экстрактом монохроматического светового потока в ультрафиолетовой области спектра. Измерения проводили согласно модифицированной методике Хышиктуева с соавторами (Дерюгина и др., 2010). Для оценки содержания продуктов ПОЛ

замороженные образцы растирали в экстрагирующей смеси гептан и изопропанол в соотношении 1:1. Объем гомогената доводили экстрагирующей смесью до 4,5 мл. Для разделения фракций добавляли 1 мл дистиллированной воды, после чего интенсивно встряхивали и инкубировали при 25 °C в течение 30 минут. После разделения фаз изопропанольную (нижнюю) фракцию (содержащую фосфолипиды) центрифугировали при 14 000 rpm в течение 2 минут. К полученному супернатанту добавляли 97% этанол (в соотношении 1:3), и измеряли поглащение света полученной смесью при помощи спектрофотометра UNICO 2804 (США). Промер ДК, ТК и ОШ проводили при длине волны 232, 278 и 400 нм соответственно. Содержание продуктов ПОЛ оценивали относительно, на пересчет по изолированным двойным связям, измеренных при длине волны 220 нм.

2.5 Расчет и статистическая обработка данных

Статистический анализ полученных данных и подготовку иллюстративного материала проводили в программной среде R (R Core Team, 2017). Результаты экспериментов по определению скорости гибели амфипод при повышенной температуре аппроксимировали с помощью нелинейной регрессии к модели Вейбулла (Wilson, 1994; Axenov-Gribanov et al., 2016) по следующей формуле:

$$m = 100 - \frac{100}{e^{(\frac{t}{p})^r}} \tag{13}$$

где: m — кумулятивная смертность амфипод в процентах к данной временной точке, t — температура или время после начала экспозиции, r и p — регрессионные коэффициенты.

Оценку статистической значимости изменений биохимических параметров амфипод в течение экспериментальных экспозиций проводили по следующей схеме. Сначала проверяли наличие отличий между выборками в рамках каждого набора данных с помощью критерия Краскела-Уоллиса. Если

обнаруживали отличия ($p < 0,05$), продолжали анализ и сравнивали каждую из экспериментальных групп с контрольной с использованием теста Данна в реализации пакета *PMCMR* (Pohlert, 2014) с поправкой Хоммеля на множественные сравнения (Hommel, 1988). Отличия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные представляли в виде диаграмм размаха («box plot») с использованием пакета ggplot2 (Wickham, 2009).

Корреляцию между медианными значениями биохимических параметров определяли по коэффициенту ранговой корреляции Спирмена. Попарную корреляцию между изучаемыми показателями визуализировали в виде сетей, если коэффициент Спирмена превышал 0,5 или был ниже -0,5, с помощью пакета *igraph* (Csardi, Nepusz, 2006) согласно рекомендациям (Hüning et al., 2011).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Оценка показателей терморезистентности байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания

В ходе первого этапа работы проводили оценку показателей терморезистентности у представителей исследуемых популяций амфипод *G. fasciatus* и *G. lacustris*. Уровень терморезистентности определяли в ходе экспозиции исследуемых амфипод из различных мест обитания в условиях как постепенного повышения температуры среды, так и воздействия шоковой температуры, отслеживая динамику их гибели. В ходе работы проведено более 50 экспериментов, в которых использовано более 600 амфипод.

На рисунке 2 представлены материалы по оценке смертности амфипод *G. fasciatus* из трех удаленных мест обитания (оз. Байкал, оз. Ладожское, Финский залив) при экспозиции в условиях постепенного повышения температуры среды. Показано, что температура гибели 50 % (LT_{50}) и 100 % особей (LT_{100}) у амфипод из Финского залива выше, чем у представителей того же вида из оз. Байкал и Ладожского озера. Так, показатели LT_{50} и LT_{100} в условиях градиентной гипертермии у *G. fasciatus* из Ладожского озера составили 31,5 °C и 32,6 °C соответственно; у представителей оз. Байкал – 32 °C и 32,9 °C; а у представителей из Финского залива – 33,5 °C и 33,9 °C, соответственно.

Из ранее опубликованных данных известно, что при постепенном повышении температуры среды на 1 °C/ч более устойчивыми являются особи *G. lacustris* из солоноводного оз. Шира, чем представители того же вида из пресноводной заводи р. Ангара. Так, показатель LT_{100} для *G. lacustris* из заводи р. Ангара составил 31 °C, тогда как для представителей оз. Шира – 33 °C (Vereshchagina et al., 2016).

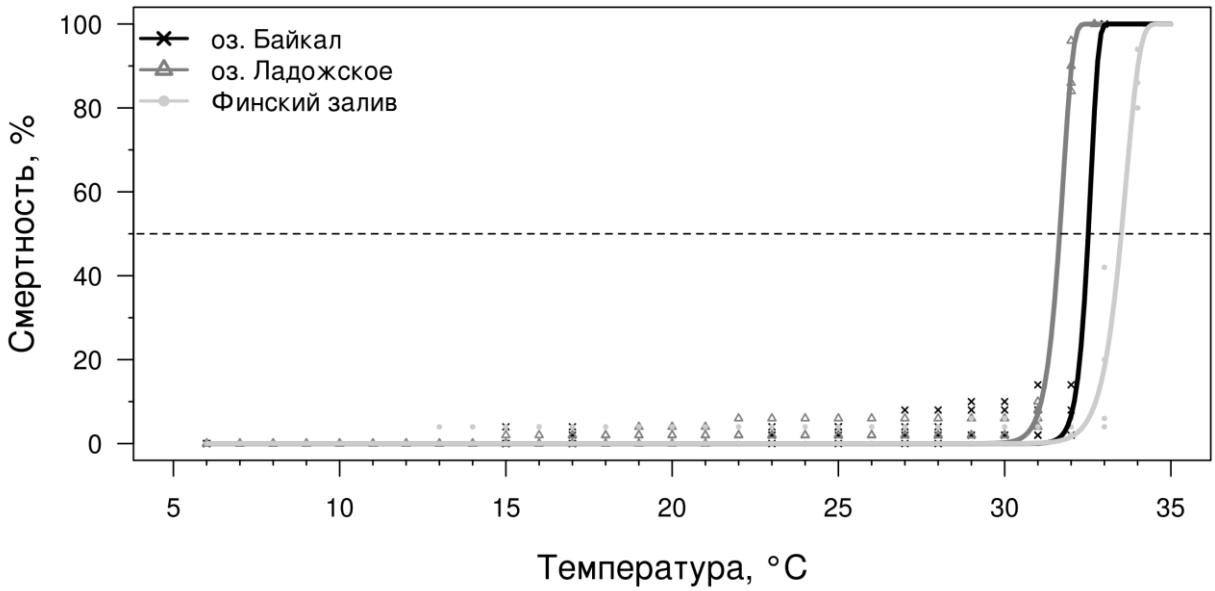

Рисунок 2. Смертность амфипод вида *G. fasciatus* в условиях постепенного повышения температуры среды
(Скорости гибели амфипод аппроксимировали с помощью нелинейной регрессии к модели Вейбулла)

Материалы, посвященные оценке смертности амфипод *G. fasciatus* их различных водоемов, экспонированных в условиях шокового температурного воздействия (28 °C), представлены на рисунке 3. Из представленных данных следует, что время гибели 50 % особей (Lt_{50}) у *G. fasciatus* из Финского залива выше, чем у амфипод из других водоемов. Так, у *G. fasciatus* из Финского залива Lt_{50} составляет 190 ч, тогда как у *G. fasciatus* из оз. Ладожского и оз. Байкал Lt_{50} составил 100 ч и 30 ч соответственно. Время гибели 100 % особей (LT_{100}) у *G. fasciatus* из Финского залива составило 481 ч, а у представителей оз. Ладожское и оз. Байкал данный показатель был ниже и составил 438 ч и 314 ч соответственно.

В условиях шоковой экспозиции (30 °C) наиболее устойчивыми оказались представители *G. lacustris* из солоноводного оз. Шира, Lt_{50} которых составил 23 ч, тогда как Lt_{50} *G. lacustris* из заводи р. Ангара не превысил и 8 ч (Рис. 4).

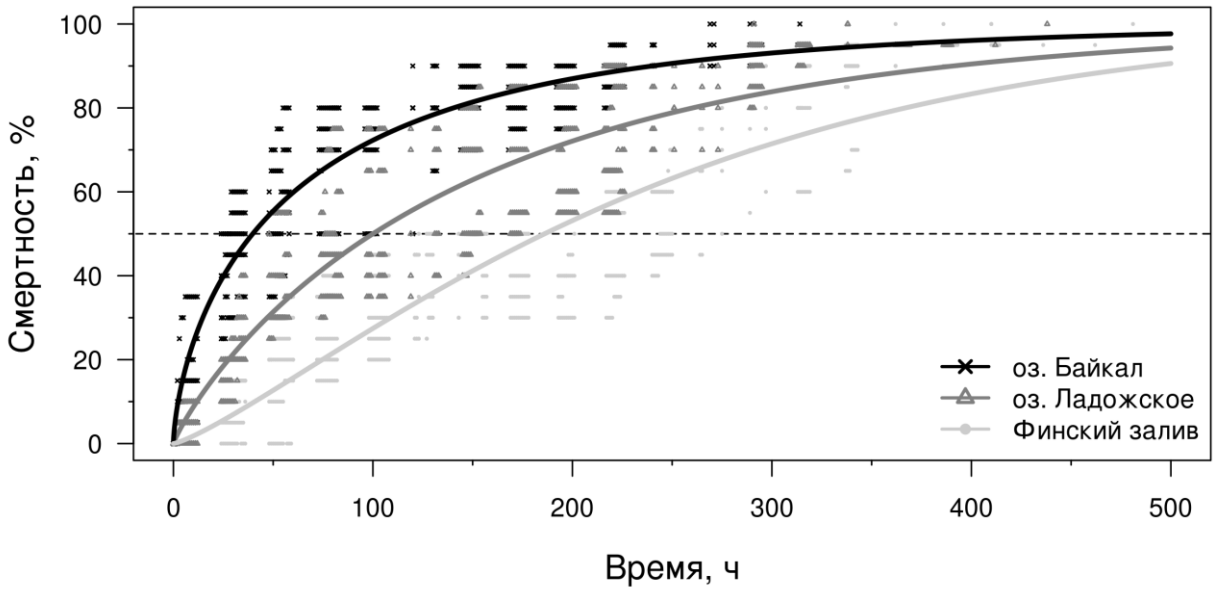

Рисунок 3. Смертность амфипод вида *G. fasciatus* из различных популяций в условиях шокового температурного воздействия (28 °C)
(Скорости гибели амфипод аппроксимировали с помощью нелинейной регрессии к модели Вейбулла)

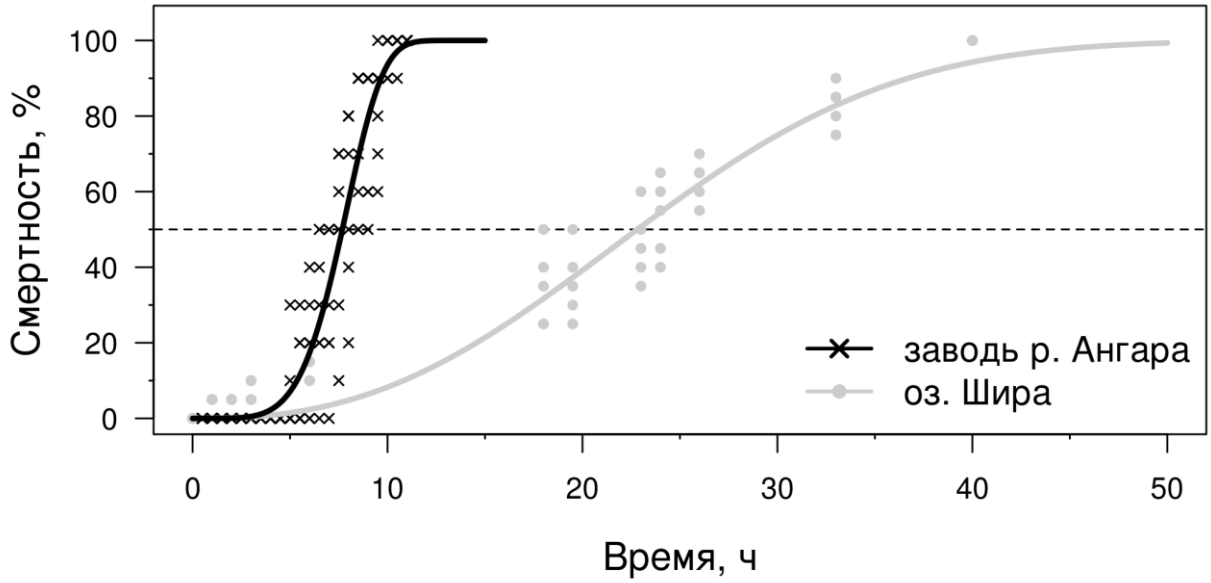

Рисунок 4. Смертность амфипод вида *G. lacustris* из различных популяций в условиях шокового температурного воздействия (30 °C)
(Скорости гибели амфипод аппроксимировали с помощью нелинейной регрессии к модели Вейбулла)

Таким образом, в настоящей диссертационной работе показано, что у амфипод *G. fasciatus* и *G. lacustris* из более минерализованных водоемов показатели терморезистентности выше, чем у представителей данных видов, обитающих в водоемах с меньшей минерализацией.

3.2 Показатели энергетического обмена у представителей байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды

В ходе данного этапа работы оценивали влияние экспериментальной постепенной непрерывной гипо- и гипертермии на содержание ряда энергетических метаболитов у амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания. Было проведено более 40 экспериментов, в которых использовано более 10 000 рачков.

3.2.1 Изменение содержания лактата у представителей байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания

Материалы по оценке изменения содержания лактата (показателя активации анаэробного метаболизма) у амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания при экспозиции в условиях изменения температуры среды представлены на рисунке 5.

Как следует из представленных материалов, базовый уровень содержания лактата у представителей вида *G. fasciatus* из трех исследуемых популяций не различался и составил 0,45 ± 0,14 мкМоль/г сыр. веса (среднее значение ± стандартное отклонение). При экспозиции *G. fasciatus* в условиях постепенного понижения температуры среды изменение содержания лактата отмечали лишь у особей из популяции оз. Байкал, у которых происходило снижение его уровня при достижении температуры 0,5-2 °С до 0,13 ± 0,058 мкМоль/г сыр. веса (рис. 5).

Экспозиция представителей вида *G. fasciatus* в условиях повышения температуры среды приводила к изменению содержания лактата у представителей всех исследованных популяций (рис. 5). У особей из байкальской популяции отмечали кратковременное снижение уровня лактата в диапазоне температур 9-11 °С с дальнейшим его восстановлением до

базовых значений. У *G. fasciatus* из ладожской популяции происходило увеличение содержания лактата при достижении температур в диапазоне 17-27 °С. У амфипод из Финского залива повышение уровня лактата происходило в диапазоне температур 17-23 °С. При достижении температур 25-27 °С у амфипод данной популяции отмечали кратковременное снижение уровня лактата до контрольных значений с дальнейшим (повторным) двукратным его увеличением в диапазоне температур 29-33 °С. Максимальное значение содержания лактата у амфипод *G. fasciatus* из данной популяции составило 1,31 ± 0,57 мкМоль/г сыр. веса при достижении температуры 33 °С. Таким образом, максимальный уровень накопления лактата у *G. fasciatus* из популяции Финского залива оказался в почти 2 раза выше, чем у представителей двух других исследуемых популяций (0,65 ± 0,19 мкМоль/г сыр. веса (25-27 °С) у представителей популяции оз. Байкал и 0,72 ± 0,32 мкМоль/г сыр. веса (17-19 °С) у амфипод из ладожской популяции).

У другого изучаемого вида, голарктического *G. lacustris*, различий в базовых уровнях содержания лактата у особей из двух исследуемых мест обитания так же отмечено не было. Содержание лактата у особей контрольных групп составило 0,082 ± 0,044 мкМоль/г сыр. веса.

В условиях постепенного повышения температуры среды у *G. lacustris* наблюдали значительное (более чем в 50 раз) увеличение концентрации лактата в тканях. Так, у представителей из пресноводной популяции заводи р. Ангара отмечали быстрое, многократное накопление лактата в диапазоне температур 25-31 °С. У представителей вида из оз. Шира увеличение содержания лактата происходило позже и при сублетальных температурах - 32-33 °С. Максимальное содержание лактата у амфипод из заводи р. Ангара отмечали при достижении температуры 27 °С (5,54 ± 0,40 мкМоль/г сыр. веса), а у представителей популяции из оз. Шира при более высокой температуре – 33 °С (4,5 ± 1,2 мкМоль/г сыр. веса).

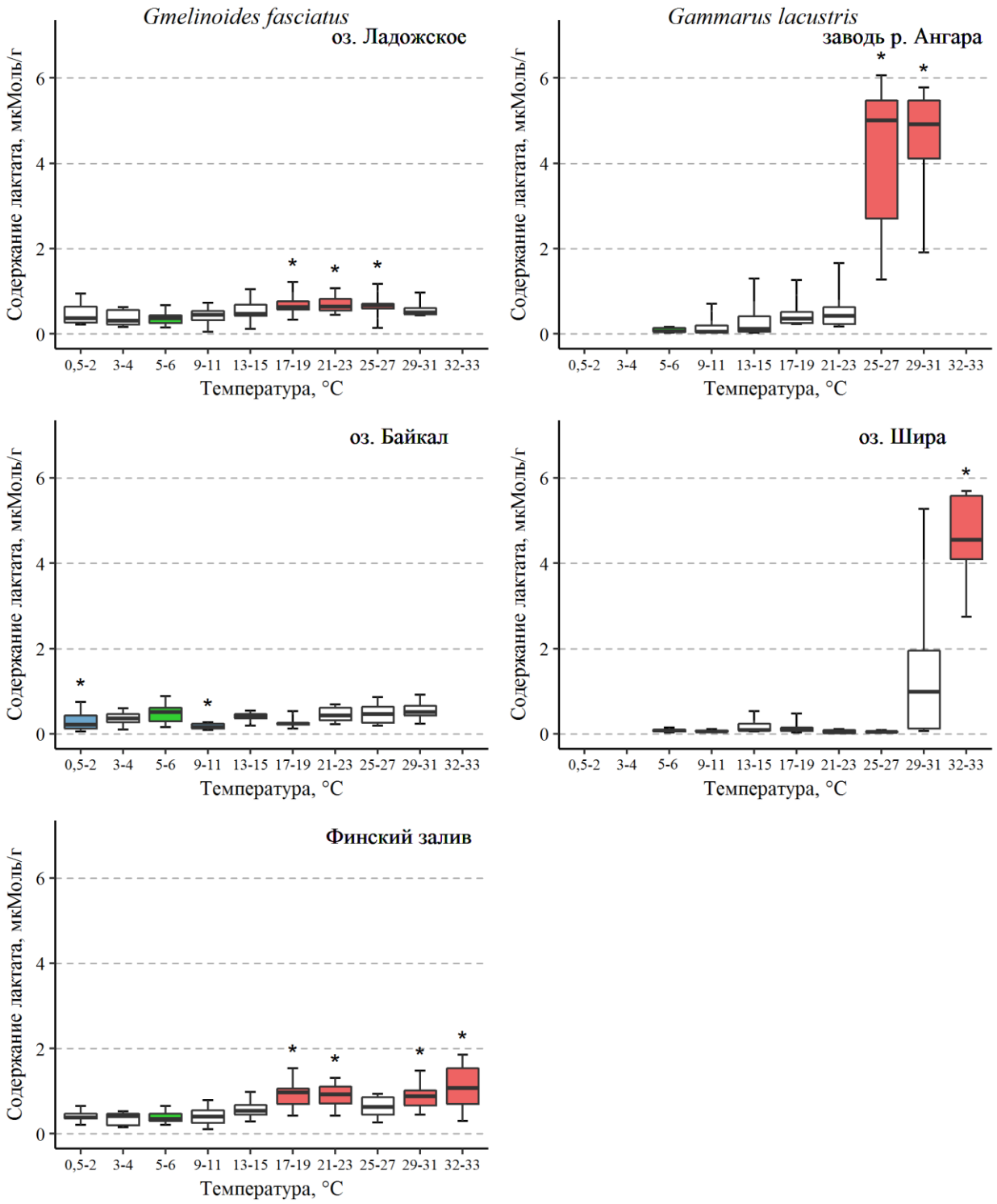

Рисунок 5. Содержание лактата у амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания, экспонированных в условиях постепенного изменения температуры среды (в мкМоль/г сыр. веса). Верхние и нижние границы диаграмм размаха обозначают наблюдаемые максимальные и минимальные значения по выборкам.

- контрольный уровень содержания лактата;
- статистически достоверное понижение содержания лактата относительно контрольного уровня;
- статистически достоверное повышение содержания лактата относительно контрольного уровня.

* - статистически достоверное отклонение от контроля при $p<0,05$ согласно тесту Данна.

3.2.2 Изменение содержания глюкозы и гликогена у представителей байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания

Материалы, отражающие динамику содержания глюкозы у представителей исследуемых видов из различных мест обитания в условиях постепенного изменения температуры, представлены на рисунке 6. Содержание свободной глюкозы в контрольных образцах *G. fasciatus* из трех отдаленных популяций различалось. Наименьший базовый уровень свободной глюкозы отмечали у амфипод контрольной группы из популяции оз. Байкал. Содержание глюкозы при этом составило 0,06 ±0,01 мкМоль/г сыр. веса, тогда как у амфипод из оз. Ладожское сожержание глюкозы составляло 0,2 ± 0,03 мкМоль/г сыр. веса, а у представителей *G. fasciatus* из Финского залива – 0,12 ± 0,03 мкМоль/г сыр. веса (рис. 6). Вместе с тем у представителей байкальской популяции отмечали наивысший базовый уровень гликогена (1,54 ± 0,14 мкМоль/г сыр. веса), относительно базового уровня гликогена у амфипод из оз. Ладожское (0,81 ± 0,14 мкМоль/г сыр. веса) и Финского залива (1,20 ± 0,14 мкМоль/г сыр. веса) (рис. 7).

В ходе оценки влияния постепенной гипо- и гипертермии установлено, что экспозиция *G. fasciatus* из оз. Ладожского и Финского залива не приводила к отклонению содержания глюкозы от контрольных значений в диапазоне температур с 0,5 до 19 °С, а для амфипод из оз. Байкал – с 0,5 до 29 °С. Увеличение содержания глюкозы у *G. fasciatus* из байкальской популяции отмечали при достижении температур 29-31 °С, а у представителей популяции Финского залива – при достижении температур 21-23 °С. Максимальный уровень глюкозы у *G. fasciatus* был отмечен у представителей популяции Финского залива при температуре 21 °С и составил 0,7 ± 0,04 мкМоль/г сыр. веса. У амфипод из ладожской популяции, напротив, наблюдали снижение содержания глюкозы в диапазоне температур 21-23 °С. Минимальный уровень содержания глюкозы в тканях амфипод вида *G. fasciatus* отмечали у

представителей ладожской популяции при температуре 23 °С, который составил 0,11 ± 0,03 мкМоль/г сыр. веса (рис. 6).

При экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды содержание гликогена у амфипод из популяции оз. Ладожское и Финского залива не отклонялось от контрольных значений на протяжении всего времени эксперимента. У представителей же *G. fasciatus* из оз. Байкал отмечали снижение уровня гликогена до 0,75 ± 0,08 мкМоль/г сыр. веса в диапазоне температур 25-27 °С с дальнейшим восстановлением до контрольных значений (рис. 7).

Содержание глюкозы и гликогена у амфипод *G. lacustris* из двух отдаленных популяций в контрольных образцах различалось. Так, уровень содержания глюкозы у амфипод из популяции оз. Шира был значительно выше (1,50± 0,98 мкМоль/г сыр. веса), чем у представителей того же вида из заводи р. Ангара (0,18±0,08 мкМоль/г сыр. веса). Вместе с тем, содержание гликогена в тканях *G. lacustris* из пресноводной популяции было в два раза выше (5,59 ± 1,07 мкМоль/г сыр. веса), чем у особей из оз. Шира (2,16 ± 0,62 мкМоль/г сыр. веса).

Таким образом, в ходе оценки стресс-индуцированного изменения содержания энергетических метаболитов в условиях постепенной гипертермии изменение содержания глюкозы отмечали только у *G. lacustris* из оз. Шира. При этом отмечено два периода снижения содержания глюкозы - при достижении диапазонов температур 17-19 °С и 25-33 °С. Уровень гликогена у представителей *G. lacustris* из обеих исследуемых популяций в условиях постепенного повышения температуры не отклонялся от контрольных значений на протяжении всего времени экспозиции (рис. 7).

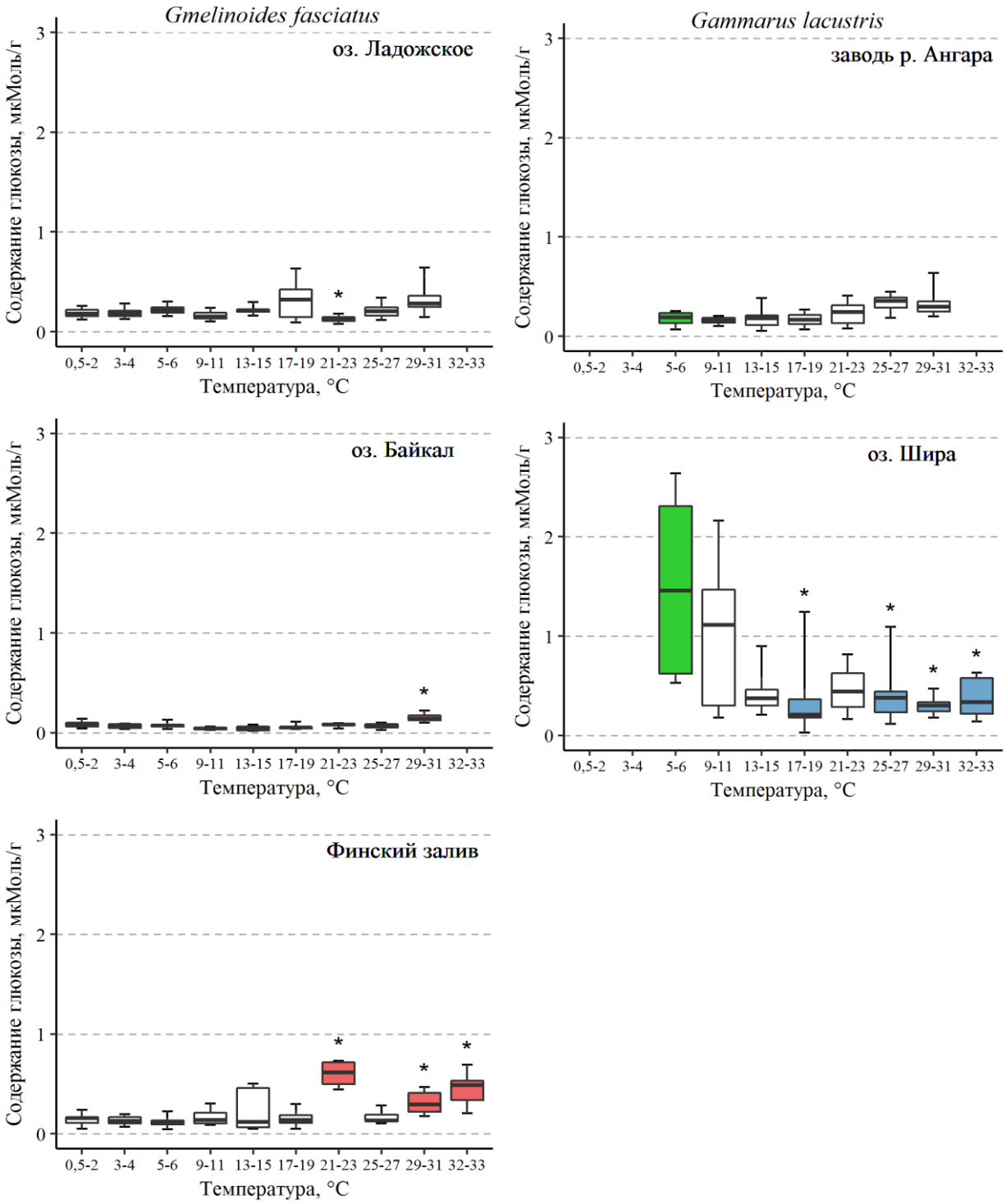

Рисунок 6. Содержание глюкозы у амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания экспонированных в условиях постепенного изменения температуры среды (в мкМоль/г сыр. веса). Верхние и нижние границы диаграмм размаха обозначают наблюдаемые максимальные и минимальные значения по выборкам.

- контрольный уровень содержания глюкозы;
- статистически достоверное понижение содержания глюкозы относительно контрольного уровня;
- статистически достоверное повышение содержания глюкозы относительно контрольного уровня.

* - статистически достоверное отклонение от контроля при $p<0,05$ согласно тесту Данна.

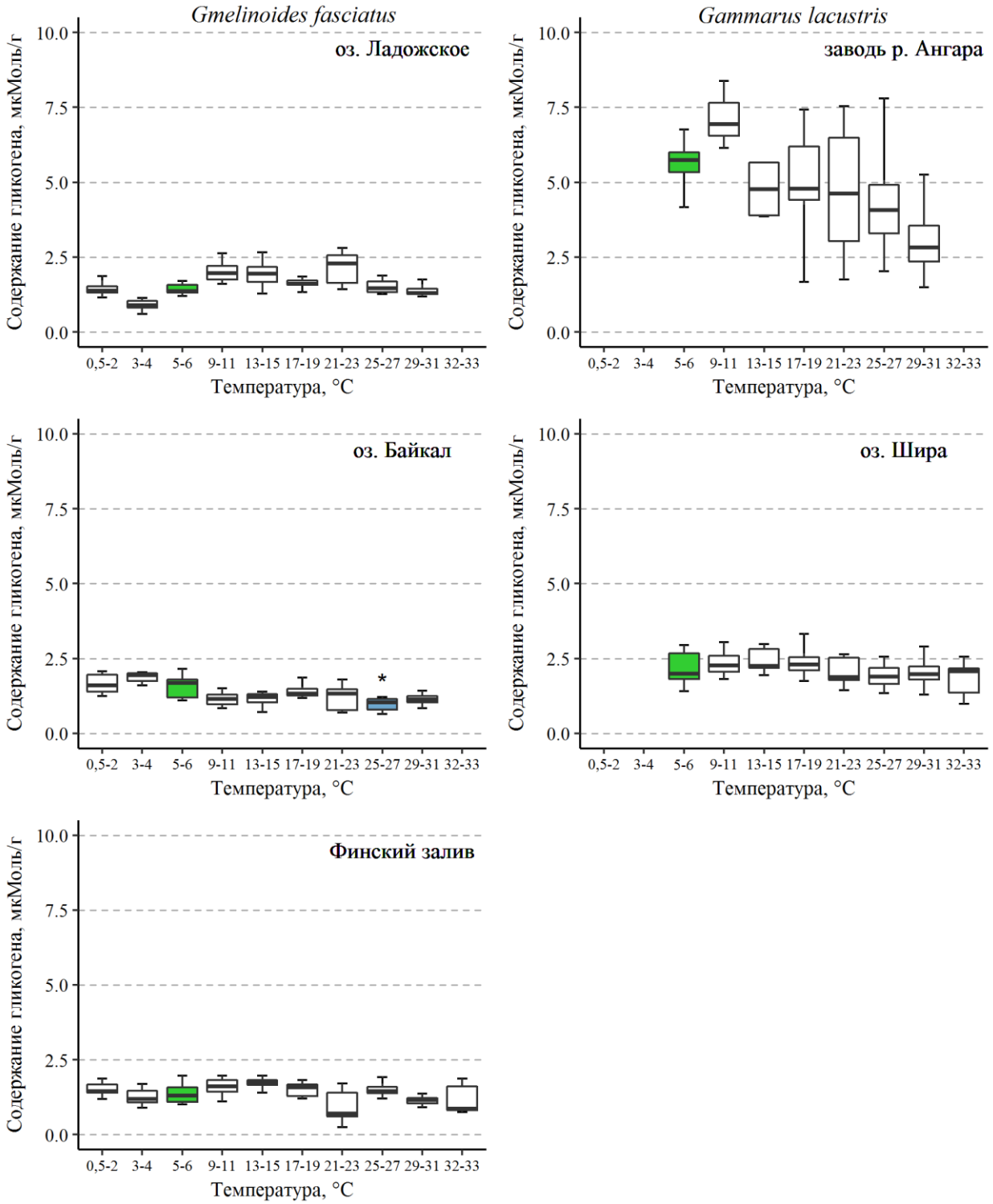

Рисунок 7. Содержание гликогена у амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания экспонированных в условиях постепенного изменения температуры среды (в мкМоль/г сыр. веса). Верхние и нижние границы диаграмм размаха обозначают наблюдаемые максимальные и минимальные значения по выборкам.

- контрольный уровень содержания гликогена;
- статистически достоверное понижение содержания гликогена относительно контрольного уровня;
- статистически достоверное повышение содержания гликогена относительно контрольного уровня.

* - статистически достоверное отклонение от контроля при $p<0,05$ согласно тесту Данна.

3.3 Активность ферментов антиоксидантной системы у представителей байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды

В ходе данного этапа работы оценивали изменение активности антиоксидантных ферментов – пероксидазы, каталазы и глутатион S-трансферазы у популяций амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания в условиях экспериментальной непрерывной градиентной гипо- и гипертермии. В ходе работы было проведено более 50 экспериментов, в которых использовано более 5 000 рачков.

3.3.1 Изменение активности пероксидазы у представителей байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания

Материалы по оценке изменения активности пероксидазы у амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания при экспозиции в условиях изменения температуры среды представлены на рисунке 8. Активность пероксидазы в контрольных образцах представителей вида *G. fasciatus* из оз. Ладожское и оз. Байкал статистически значимо не отличалась и составила 0,021 ± 0,006 нКат/мг белка и 0,027 ± 0,008 нКат/мг белка, соответственно. В то же время, у амфипод из Финского залива активность пероксидазы в контрольных образцах была ниже и составила 0,010 ± 0,002 нКат/мг белка.

При экспозиции *G. fasciatus* из оз. Ладожское и оз. Байкал в условиях изменения температуры среды активность пероксидазы была стабильной и не отклонялась от контрольных значений. У представителей данного вида из Финского залива в условиях эксперимента наблюдали повышение активности пероксидазы при достижении диапазонов температур 9-15 °С и 21-23 °С. При этом максимальная активность фермента была отмечена при температуре 11 °С и составила 0,042 ± 0,014 нКат/мг белка.

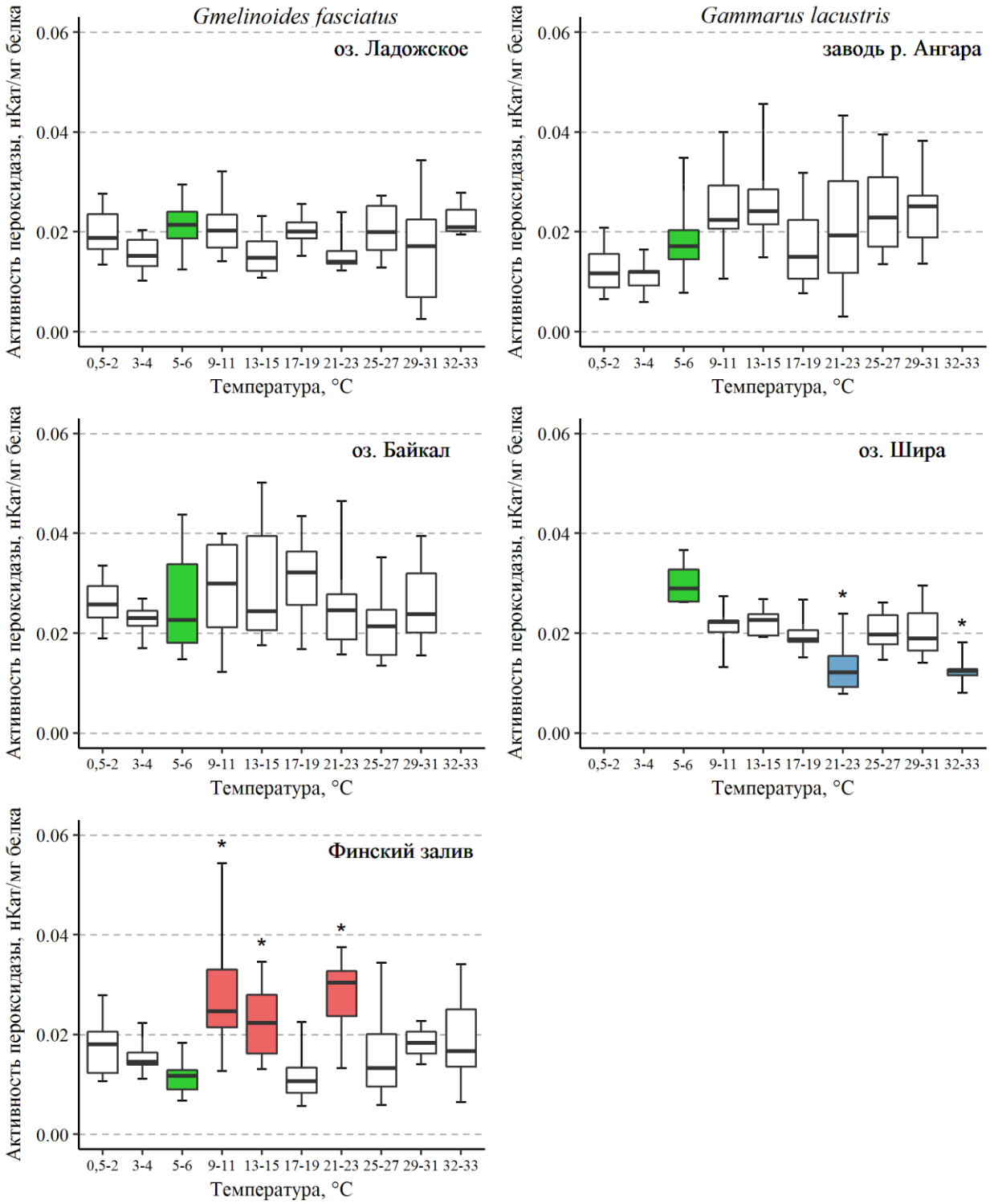

Рисунок 8. Изменение удельной активности пероксидазы у амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания экспонированных в условиях постепенного изменения температуры среды (в нКат/мг белка). Верхние и нижние границы диаграмм размаха обозначают наблюдаемые максимальные и минимальные значения по выборкам.

- контрольный уровень активности пероксидазы;
- статистически достоверное понижение активности пероксидазы относительно контрольного уровня;
- статистически достоверное повышение активности пероксидазы относительно контрольного уровня;

* - статистически достоверное отклонение от контроля при $p<0,05$ согласно тесту Данна.

У *G. lacustris* изменения активности пероксидазы отмечали лишь у представителей популяции оз. Шира. Снижение ее активности происходило в диапазоне температур 21-23 °С и 32-33 °С. Наименьшее значение активности данного фермента (0,009 ± 0,002 нКат/мг белка) отмечали при 23°С.

3.3.2 Изменение активности каталазы у байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания

Материалы по оценке изменения активности каталазы у амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания при экспозиции в условиях изменения температуры среды представлены на рисунке 9. Активность каталазы в контрольных образцах у представителей вида *G. fasciatus* из трех исследуемых водоемов различалась. Так, у амфипод из популяции оз. Ладожское активность каталазы в контроле была в два раза выше, чем у представителей популяции *G. fasciatus* из оз. Байкал и Финского залива (1040 ± 149 нКат/мг белка, 404 ± 117 нКат/мг белка и 523 ± 77 нКат/мг белка, соответственно). При экспозиции в условиях постепенной гипотермии отмечали повышение активности каталазы у *G. fasciatus* из популяции Финского залива при понижении температуры до 0,5-2 °С, тогда как у амфипод из двух других исследуемых популяций активность каталазы оставалась на уровне контрольных значений.

Экспозиция амфипод *G. fasciatus* из оз. Ладожского и Финского залива в условиях постепенной гипертермии приводила к снижению активности каталазы при достижении температур 21-23 °С и 9-11 °С соответственно. В то же время, у амфипод из оз. Байкал активность каталазы не отклонялась от контрольных значений на протяжении всего эксперимента.

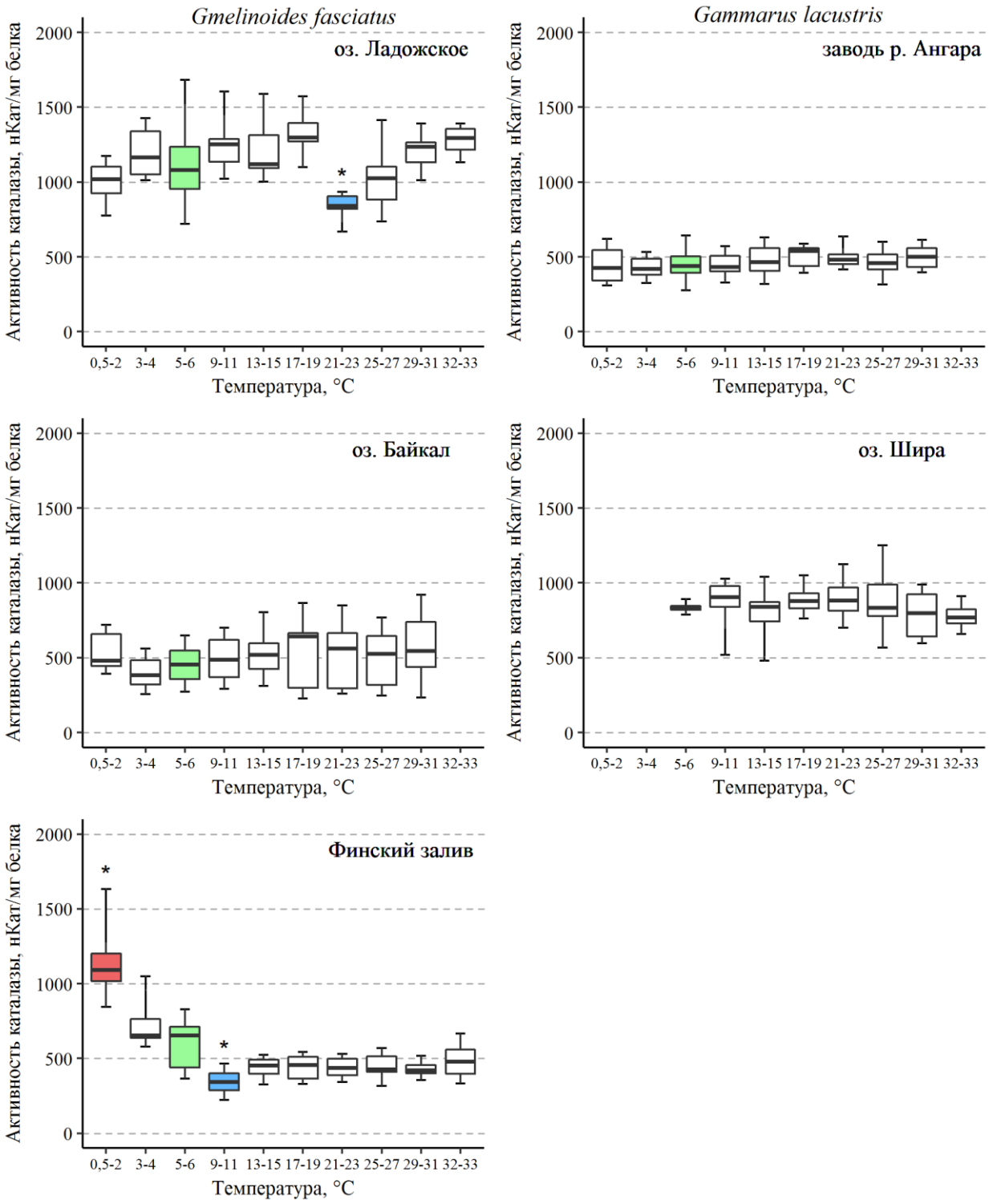

Рисунок 9. Изменение удельной активности каталазы у амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания экспонированных в условиях постепенного изменения температуры среды (в нКат/мг белка). Верхние и нижние границы диаграмм размаха обозначают наблюдаемые максимальные и минимальные значения по выборкам.

- контрольный уровень активности каталазы;
- статистически достоверное понижение активности каталазы относительно контрольного уровня;
- статистически достоверное повышение активности каталазы относительно контрольного уровня;

* - статистически достоверное отклонение от контроля при $p<0,05$ согласно тесту Данна.

Активность каталазы в контрольных образцах представителей вида *G. lacustris* так же была различна. Так, у амфипод из популяции из оз. Шира показатель активности каталазы был в полтора раза выше, чем у представителей *G. lacustris* популяции заводи р. Ангара (835 ± 42 нКат/мг белка и 451 ± 80 нКат/мг белка, соответственно). При экспозиции в условиях постепенной непрерывной гипо- и гипертермии у представителей вида *G. lacustris* из обеих исследуемых популяций изменения активности каталазы не наблюдали.

3.3.3 Изменение активности глутатион S-трансферазы у байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания

Материалы по оценке изменения активности глутатион S-трансферазы у амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания при экспозиции в условиях изменения температуры среды представлены на рисунке 10. Как видно на представленном рисунке, базовый уровень активности глутатион S-трансферазы у представителей вида *G. fasciatus* из трех исследуемых водоемов имел различные значения. У амфипод из оз. Ладожское отмечали наивысшую базовую активность данного фермента (7 ± 0,5 нКат/мг белка), тогда как у амфипод из оз. Байкал показатель базовой активности глутатион S-трансферазы составил 4 ± 0,7 нКат/мг белка, а у представителей Финского залива – 5 ± 0,7 нКат/мг белка.

При экспозиции представителей *G. fasciatus* из всех исследуемых популяций в условиях постепенного понижения температуры среды активность глутатион S-трансферазы оставалась стабильной и не отклонялась от контрольных показателей.

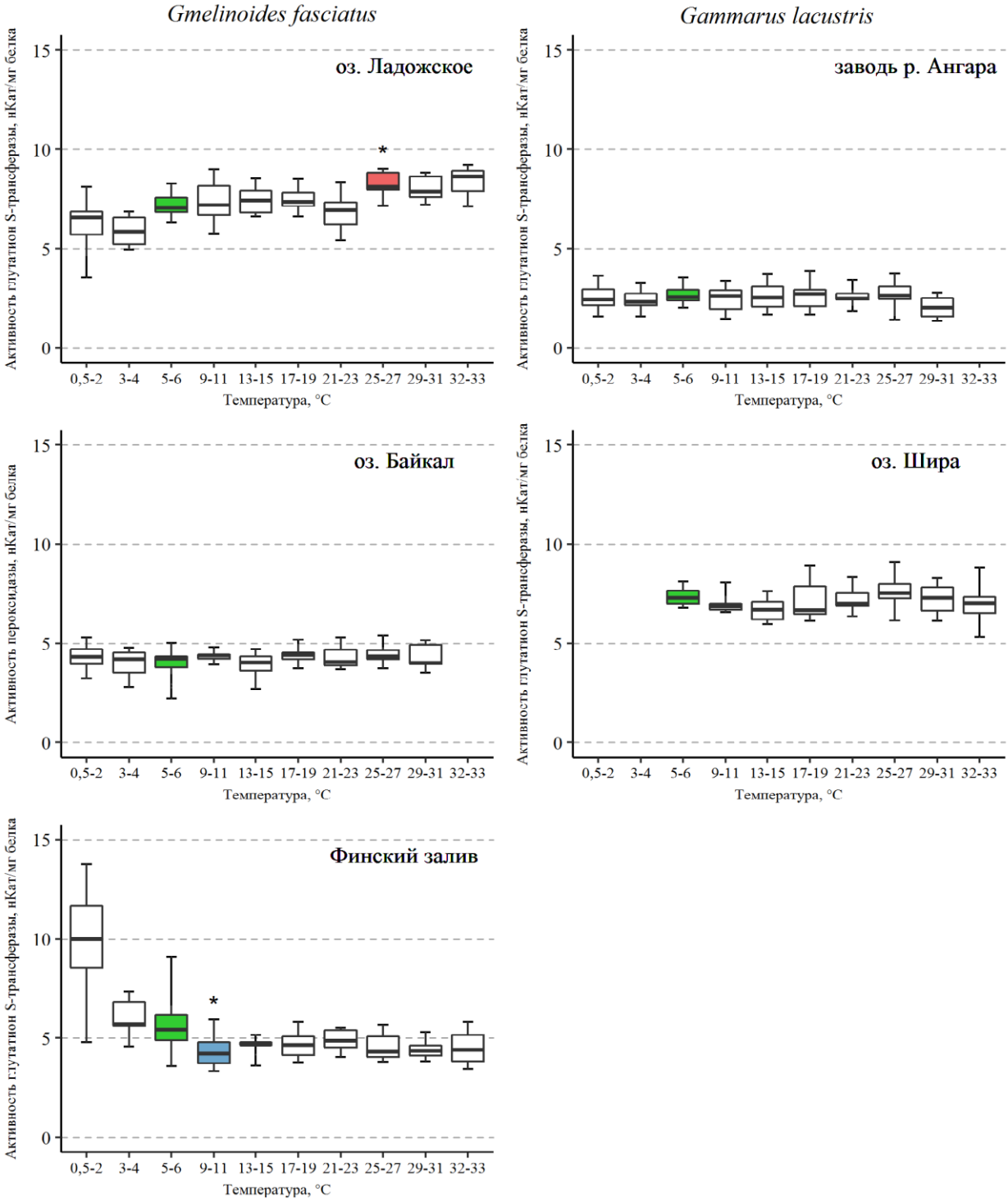

Рисунок 10. Изменение удельной активности глутатион S-трансферазы у амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания экспонированных в условиях постепенного изменения температуры среды (в нКат/мг белка). Верхние и нижние границы диаграмм размаха обозначают наблюдаемые максимальные и минимальные значения по выборкам.

- контрольный уровень активности глутатион S-трансферазы;
- статистически достоверное понижение активности глутатион S-трансферазы относительно контрольного уровня;
- статистически достоверное повышение активности глутатион S-трансферазы относительно контрольного уровня;

* - статистически достоверное отклонение от контроля при $p<0,05$ согласно тесту Данна.

Экспозиция в условиях постепенного повышения температуры среды приводила к кратковременному увеличению активности фермента при достижении диапазона температур 25-27 °С у представителей данного вида из оз. Ладожское. У амфипод из Финского залива, напротив, отмечали кратковременное снижение активности глутатион S-трансферазы при температурах 9-11 °С.

Активность глутатион S-трансферазы в контрольных образцах представителей вида *G. lacustris* из двух исследуемых популяций была различна. Так, активность фермента у амфипод из солоноводой популяции оз. Шира была в 2,5 раза выше (7 ± 0,6 нКат/мг белка), чем у представителей пресноводной популяции *G. lacustris* из заводи р. Ангара (3 ± 0,36 нКат/мг белка). При экспозиции в условиях постепенного повышения и понижения температуры среды у обеих популяций амфипод не отмечали изменений активности глутатион S-трансферазы в течении всего эксперимента.

Таким образом, в ходе проведенного исследования с представителями вида *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания, выявлены как сходства, так и различия в показателях базовой активности ферментов АОС, а также в направленности изменений активности исследованных ферментов при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды.

3.4 Изменение содержания БТШ70 у байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды

В ходе данного этапа работы оценивали изменение содержания универсального маркера неспецифической системы стресс-ответа – БТШ70, у представителей популяций двух исследуемых видов амфипод, *G. fasciatus* и *G. lacustris*, из различных ареалов в условиях постепенного непрерывного повышения или понижения температуры среды. В ходе работы было

проведено более 30 экспериментов, в которых использовано более 3000 рачков.

На рисунке 11 представлены материалы по оценке изменения содержания БТШ70 при экспозиции представителей вида *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных популяций в условиях изменения температуры среды. Как видно из представленных материалов, экспозиция амфипод вида *G. fasciatus* в условиях постепенного понижения температуры среды приводила к снижению содержания БТШ70 только у представителей ладожской популяции при достижении температур 0,5-2 °С.

При экспозиции в условиях постепенного повышении температуры наблюдали как увеличение, так и снижение содержания БТШ70. Так, увеличение содержания БТШ70 отмечали у представителей *G. fasciatus* из популяции оз. Байкал и *G. lacustris* из популяции заводи р. Ангара. У байкальской популяции *G. fasciatus* повышение содержания БТШ70 происходило дважды: при достижении диапазонов температур 9-11 °С и при 25-31 °С. У *G. lacustris* из популяции заводи р. Ангара увеличение содержания БТШ70 отмечали лишь к концу экспозиции, в диапазоне температур 29-32 °С. Необходимо отметить, что увеличение содержания БТШ70 у *G. fasciatus* было небольшим – в 2 раза, тогда как а у *G. lacustris* зафиксировано пятикратное накопление БТШ70. Снижение содержания БТШ70 отмечали у *G. fasciatus* из популяции Финского залива в диапазоне температур 9-15 °С с последующим восстановлением до контрольного уровня (рис. 11).

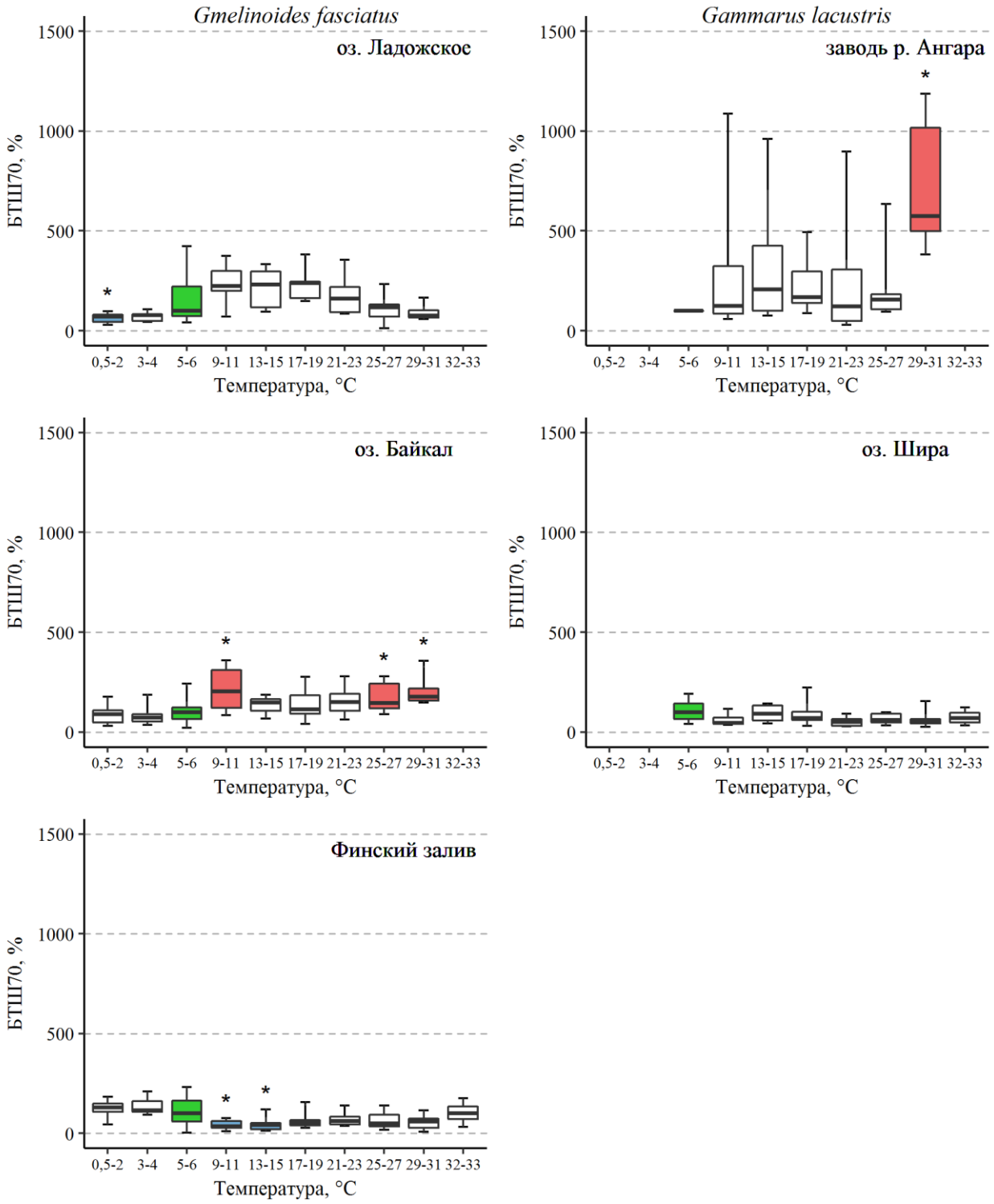

Рисунок 11. Изменение содержания БТШ70 у амфипод вида *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания экспонированных в условиях постепенного изменения температуры среды (в % относительно контрольного уровня). Верхние и нижние границы диаграмм размаха обозначают наблюдаемые максимальные и минимальные значения по выборкам.

- контрольный уровень содержания БТШ;
- статистически достоверное понижение содержания БТШ70 (%) относительно контрольного уровня;
- статистически достоверное повышение содержания БТШ70 (%) относительно контрольного уровня;

* - статистически достоверное отклонение от контроля при $p<0,05$ согласно тесту Данна.

3.5 Изменение уровня перекисного окисления липидов у представителей байкальского вида амфипод *G. fasciatus* и голарктического вида *G. lacustris* из различных мест обитания при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды

На данном этапе исследования проводили оценку окислительных процессов у представителей видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных водоемов, в условиях постепенного изменения температуры среды, по показателям уровня продуктов ПОЛ (диеновые конъюгаты, триеновые конъюгаты, основания Шиффа). В ходе работы было проведено более 25 экспериментов, в которых использовано более 5 000 рачков.

Как следует из представленных материалов, у амфипод обоих исследуемых видов не наблюдали различий (0,50 ± 0,02 усл. ед.) в базовых уровнях содержания первичного продукта ПОЛ - диеновых конъюгатов (ДК). Стоит отметить, что в условиях изменения температуры среды у представителей *G. fasciatus* и *G. lacustris* из всех исследуемых популяций уровень ДК не изменялся на протяжении всего времени экспозиции (рис. 12).

В базовых уровнях другого продукта ПОЛ – триеновых коньюгатов, отмечали различия у представителей разных популяций исследуемых видов амфипод. Так, у представителей *G. fasciatus* из Финского залива и *G. lacustris* из оз. Шира базовый уровень ТК был в 1,5 раза выше (0,2 ± 0,02 усл. ед.; 0,19 ± 0,02 усл. ед., соответственно), чем у амфипод *G. fasciatus* из других популяций (0,34 ± 0,03 усл. ед.). В ходе оценки влияния постепенной гипо- и гипертермии на амфипод установлено, что экспозиция *G. fasciatus* из популяций оз. Байкал и оз. Ладожское и *G. lacustris* из оз. Шира не приводила к изменению содержания ТК от контрольных значений в течении всего эксперимента. В то же время у представителей *G. fasciatus* из Финского залива отмечали повышение данного продукта ПОЛ при достижении температур температур 13-15 °С (кратковременно) и 25-33 °С (рис. 13).

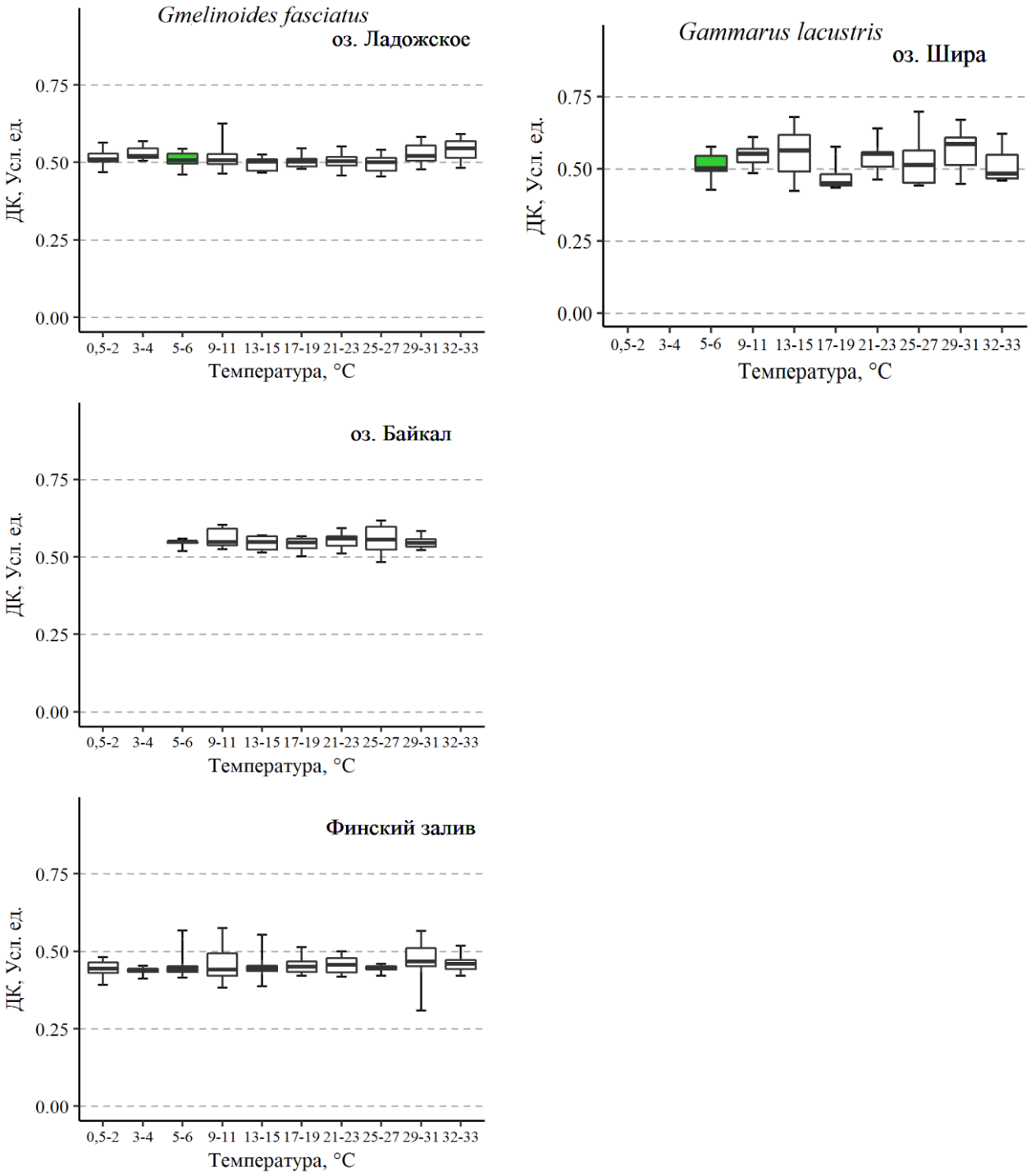

Рисунок 12. Изменение содержания диеновых конъюгатов у амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания экспонированных в условиях постепенного изменения температуры среды (в усл. ед.). Верхние и нижние границы диаграмм размаха обозначают наблюдаемые максимальные и минимальные значения по выборкам.

- контрольный уровень содержания диеновых конъюгатов;
- статистически достоверное понижение содержания диеновых конъюгатов относительно контрольного уровня;
- статистически достоверное повышение содержания диеновых конъюгатов относительно контрольного уровня;

* - статистически достоверное отклонение от контроля при $p<0,05$ согласно тесту Данна.

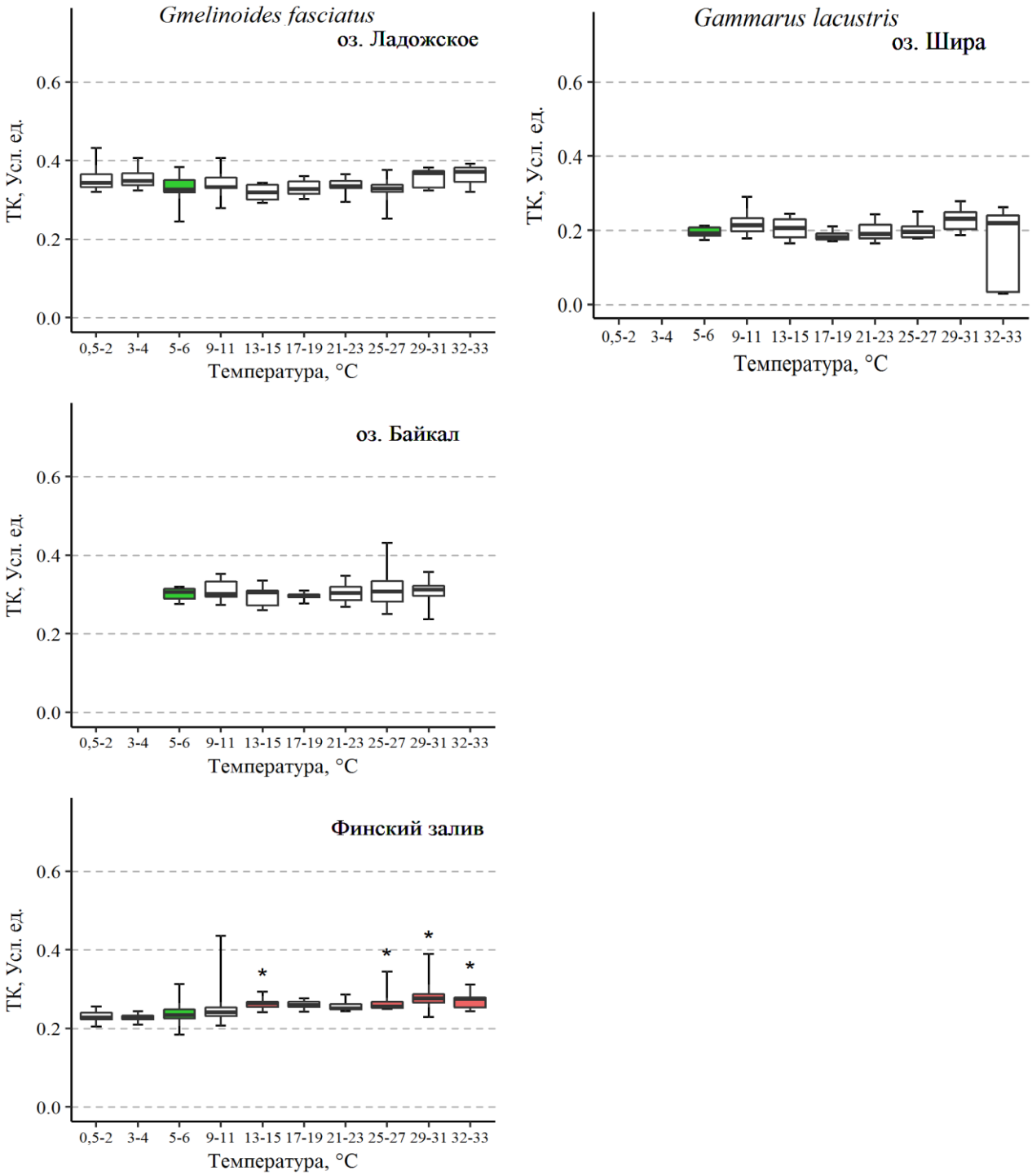

Рисунок 13. Изменение содержания триеновых конъюгатов у амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания экспонированных в условиях постепенного изменения температуры среды (в усл. ед.). Верхние и нижние границы диаграмм размаха обозначают наблюдаемые максимальные и минимальные значения по выборкам.

- контрольный уровень содержания триеновых конъюгатов;
- статистически достоверное понижение содержания триеновых конъюгатов относительно контрольного уровня;
- статистически достоверное повышение содержания триеновых конъюгатов относительно контрольного уровня;

* - статистически достоверное отклонение от контроля при $p<0,05$ согласно тесту Данна.

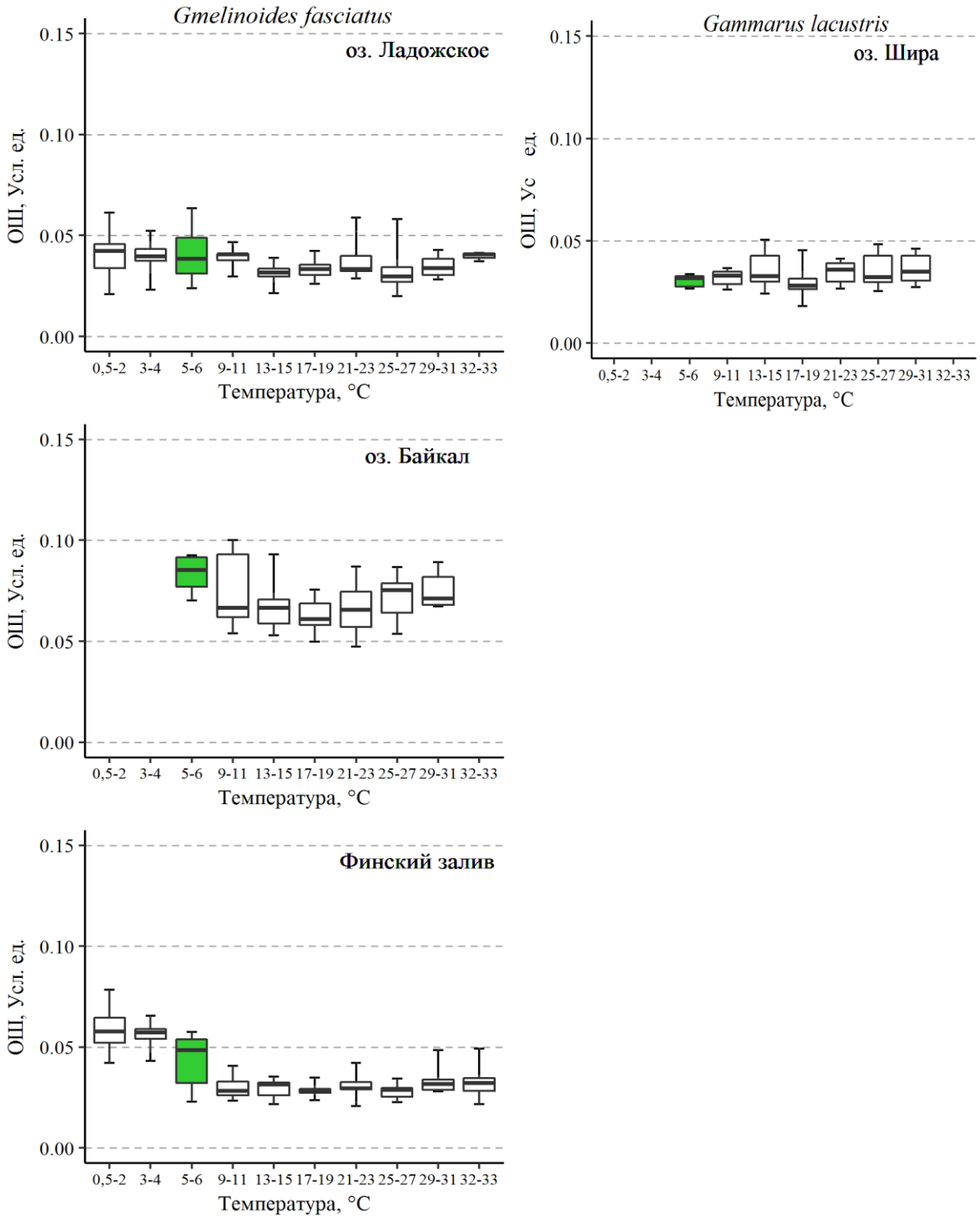

Рисунок 14. Изменение содержания оснований Шиффа у амфипод вида *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания экспонированных в условиях постепенного изменения температуры среды (в усл. ед.). Верхние и нижние границы диаграмм размаха обозначают наблюдаемые максимальные и минимальные значения по выборкам.

- контрольный уровень содержания оснований Шиффа;
- статистически достоверное понижение содержания оснований Шиффа относительно контрольного уровня;
- статистически достоверное повышение содержания оснований Шиффа относительно контрольного уровня;

В базовых уровнях конечных продуктов ПОЛ – оснований Шиффа (ОШ) – у представителей разных популяций видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* были отмечены различия (рис. 14). Наивысший уровень содержания ОШ наблюдали у *G. fasciatus* и оз. Байкал (0,08 ± 0,01 усл. ед.). Данный показатель был в 2 раза выше, чем у представителей других исследуемых популяций (0,04 ± 0,01 усл. ед.). При экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды уровень ОШ у представителей обоих видов и всех исследуемых популяций был стабилен.

3.6 Корреляционный анализ полученных данных. Корреляционные сети

Происходящие в живом организме метаболические процессы взаимосвязаны и непрерывны. Принимая во внимание, что адаптивные процессы затрагивают все уровни биологической организации, к изучению вопросов стресс-адаптации необходимо подходить с применением комплексных статистических и аналитических подходов. Рассмотреть возможные взаимосвязи (корреляции) клеточных процессов с исследованными параметрами позволяют модели, визуализированные в виде сетей.

Проведенный корреляционный анализ выявил различия как в направленности, так и в степени взаимосвязи (тесноты) между исследуемыми показателями у представителей отдаленных популяций амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris*. На рисунках 15-19 и в таблицах 2-6 представлены корреляционные связи между биохимическими параметрами, визуализированные в виде сетей.

Используемы в данной главе сокращения:

КАТ – каталаза, ПОД – пероксидаза, ГСТ – глутатион S-трансфераза, ГЛЮ – глюкоза, ГЛИ – гликоген, ЛАК – лактат, ДК – диеновые конъюгаты, ТК – триеновые конъюгаты, ОШ – основания Шиффа.

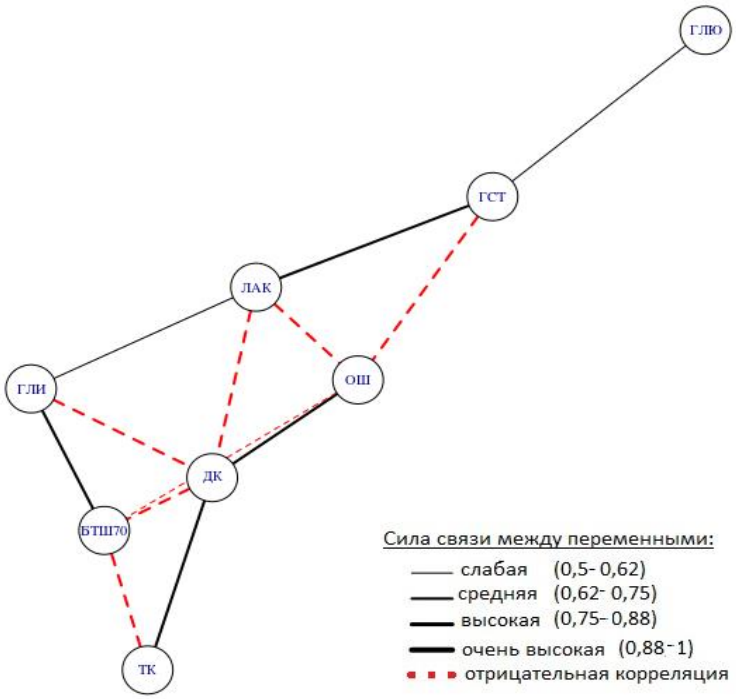

Рисунок 15. Корреляционная сеть взаимосвязи клеточных стресс-маркеров у амфипод вида *G. fasciatus* из популяции оз. Ладожское при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды.

Таблица 2.

Корреляционный анализ динамики клеточных стресс-маркеров у амфипод вида *G. fasciatus* из популяции оз. Ладожское при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды.

	КАТ	ПОД	ГСТ	ГЛЮ	ГЛИ	ЛАК	ДК	ТК	ОШ	БТШ70
КАТ		0,38	0,27	0,47	-0,13	-0,13	0,13	-0,03	0,03	0,38
ПОД	0,38		0,15	0,35	-0,13	-0,20	-0,02	-0,32	0,23	0,07
ГСТ	0,27	0,15		0,53	0,15	**0,67**	-0,48	-0,32	**-0,72**	0,33
ГЛЮ	0,47	0,35	**0,53**		-0,38	0,10	-0,02	-0,30	-0,37	0,10
ГЛИ	-0,13	-0,13	0,15	-0,38		**0,53**	**-0,67**	-0,43	-0,28	**0,72**
ЛАК	-0,13	-0,20	**0,67**	0,10	**0,53**		**-0,63**	-0,13	**-0,75**	0,42
ДК	0,13	-0,02	-0,48	-0,02	**-0,67**	**-0,63**		**0,75**	**0,75***	**-0,75**
ТК	-0,03	-0,32	-0,32	-0,30	-0,43	-0,13	**0,75**		0,50	**-0,70**
ОШ	0,03	0,23	**-0,72**	-0,37	-0,28	**-0,75**	**0,75**	0,50		**-0,55**
БТШ70	0,38	0,07	0,33	0,10	**0,72**	0,42	**-0,75**	**-0,70**	**-0,55**	

Жирным шрифтом в таблице выделены коэффициенты корреляции выше 0,5 по модулю.

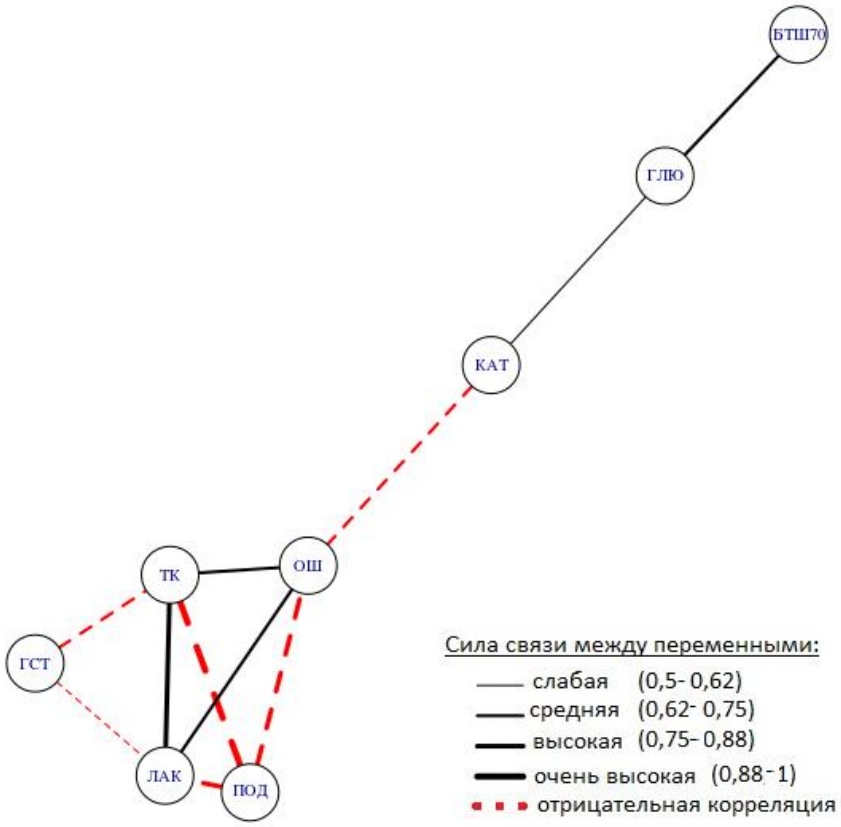

Рисунок 16. Корреляционная сеть взаимосвязи клеточных стресс-маркеров у амфипод вида *G. fasciatus* из популяции оз. Байкал при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды.

Таблица 3.

Корреляционный анализ динамики клеточных стресс-маркеров у амфипод вида *G. fasciatus* из популяции оз. Байкал при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды

	КАТ	ПОД	ГСТ	ГЛЮ	ГЛИ	ЛАК	ДК	ТК	ОШ	БТШ70
КАТ		0,43	0,07	**0,61**	-0,07	-0,21	-0,14	-0,25	**-0,71**	0,04
ПОД	0,43		0,43	0,43	0,29	**-0,82**	-0,36	**-0,89**	**-0,86**	0,29
ГСТ	0,07	0,43		-0,14	0,07	**-0,54**	0	**-0,68**	-0,21	-0,29
ГЛЮ	**0,61**	0,43	-0,14		-0,18	-0,25	-0,11	-0,14	-0,46	**0,71**
ГЛИ	-0,07	0,29	0,07	-0,18		0,11	0,29	-0,43	-0,21	-0,46
ЛАК	-0,21	**-0,82**	**-0,54**	-0,25	0,11		0,21	**0,82**	**0,71**	-0,39
ДК	-0,14	-0,36	0	-0,11	0,29	0,21		0,04	0,14	-0,25
ТК	-0,25	**-0,89**	**-0,68**	-0,14	-0,43	**0,82**	0,04		**0,75**	0
ОШ	**-0,71**	**-0,86**	-0,21	-0,46	-0,21	**0,71**	0,14	**0,75**		-0,18
БТШ70	0,04	0,29	-0,29	**0,71**	-0,46	-0,39	-0,25	0	-0,18	

Жирным шрифтом в таблице выделены коэффициенты корреляции выше 0,5 по модулю.

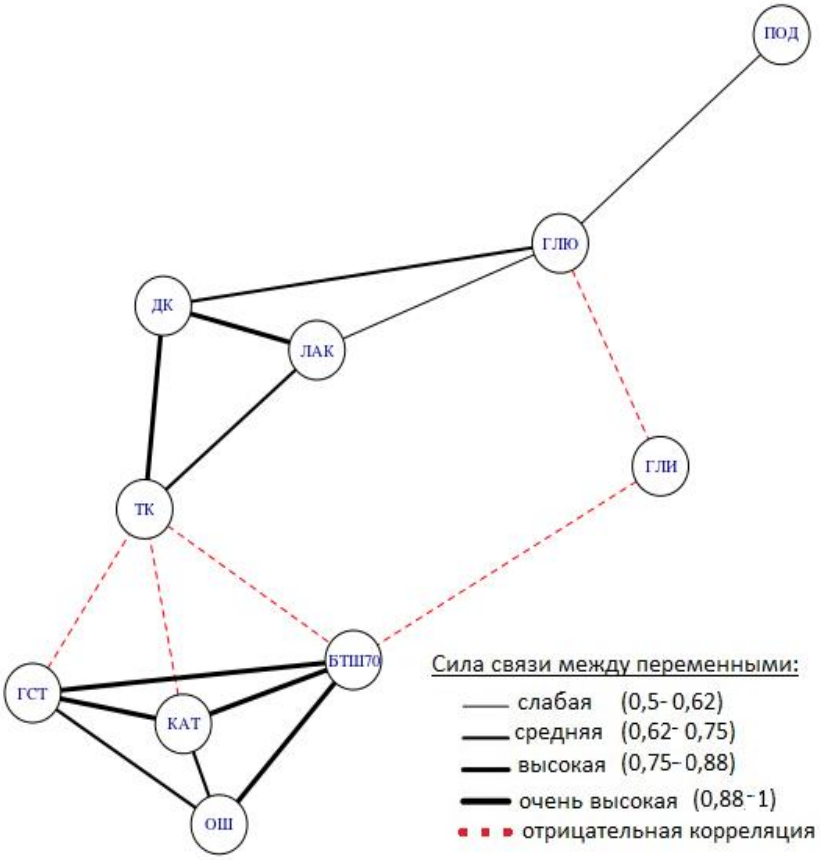

Рисунок 17. Корреляционная сеть взаимосвязи клеточных стресс-маркеров у амфипод вида *G. fasciatus* из популяции Финского залива при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды

Таблица 4.

Корреляционный анализ динамики клеточных стресс-маркеров у амфипод вида *G. fasciatus* из популяции Финского залива при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды.

	КАТ	ПОД	ГСТ	ГЛЮ	ГЛИ	ЛАК	ДК	ТК	ОШ	БТШ70
КАТ		-0,48	**0,85**	-0,27	-0,16	-0,31	-0,31	**-0,52**	**0,73**	**0,83**
ПОД	-0,48		-0,14	**0,50**	-0,12	0,01	0,12	0,09	-0,07	-0,27
ГСТ	**0,85**	-0,14		-0,20	-0,24	-0,38	-0,35	**-0,61**	**0,72**	**0,81**
ГЛЮ	-0,27	**0,50**	-0,20		**-0,60**	**0,58**	**0,65**	0,28	-0,09	0,09
ГЛИ	-0,16	-0,12	-0,24	**-0,60**		-0,36	-0,45	-0,08	-0,41	**-0,60**
ЛАК	-0,31	0,01	-0,38	**0,58**	-0,36		**0,81**	0,75	-0,44	-0,22
ДК	-0,31	0,12	-0,35	**0,65**	-0,45	**0,81**		0,81	-0,25	-0,13
ТК	**-0,52**	0,09	**-0,61**	0,28	-0,08	0,75	0,81		-0,42	**-0,50**
ОШ	**0,73**	-0,07	**0,72**	-0,09	-0,41	-0,44	-0,25	-0,42		**0,85**
БТШ70	**0,83**	-0,27	**0,81**	0,09	**-0,60**	-0,22	-0,13	**-0,50**	**0,85**	

Жирным шрифтом в таблице выделены коэффициенты корреляции выше 0,5 по модулю.

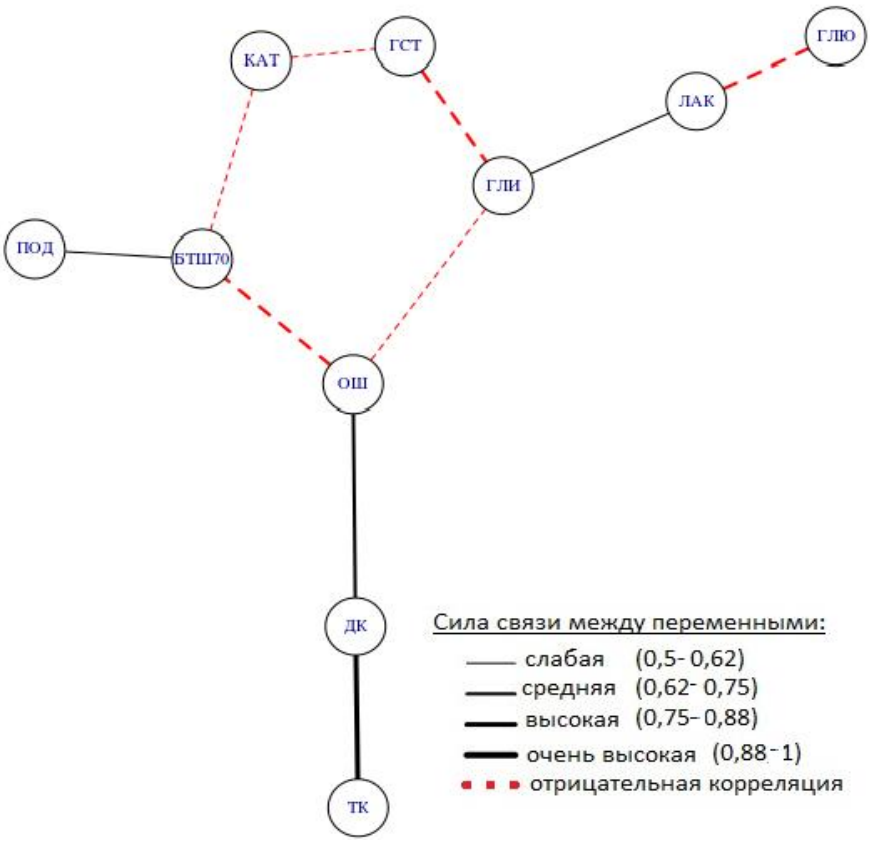

Рисунок 18. Корреляционная сеть взаимосвязи клеточных стресс-маркеров у амфипод вида *G. lacustris* из популяции оз. Шира при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды

Таблица 5.

Корреляционный анализ динамики клеточных стресс-маркеров у амфипод вида *G. lacustris* из популяции оз. Шира при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды.

	КАТ	ПОД	ГСТ	ГЛЮ	ГЛИ	ЛАК	ДК	ТК	ОШ	БТШ70
КАТ		-0,29	**-0,61**	0,18	0,29	-0,5	-0,14	-0,14	0,18	**-0,54**
ПОД	-0,29		0,07	0,5	0,29	0,11	0,07	0,36	-0,36	**0,54**
ГСТ	**-0,61**	0,07		0,29	**-0,75**	-0,25	0,18	0,36	0,25	-0,11
ГЛЮ	0,18	0,5	0,29		-0,25	**-0,64**	-0,11	0,04	0,14	-0,07
ГЛИ	0,29	0,29	**-0,75**	-0,25		**0,54**	-0,21	-0,04	**-0,57**	0,21
ЛАК	-0,14	0,11	-0,25	**-0,64**	**0,54**		0,21	0,29	-0,29	0,36
ДК	-0,14	0,07	0,18	-0,11	-0,21	0,21		**0,86**	**0,75**	-0,39
ТК	-0,14	0,36	0,36	0,04	-0,04	0,29	**0,86**		0,46	-0,32
ОШ	0,18	-0,36	0,25	0,14	**-0,57**	-0,29	**0,75**	0,46		**-0,71**
БТШ70	**-0,54**	**0,54**	-0,11	-0,07	0,21	0,36	-0,39	-0,32	**-0,71**	

Жирным шрифтом в таблице выделены коэффициенты корреляции выше 0,5 по модулю.

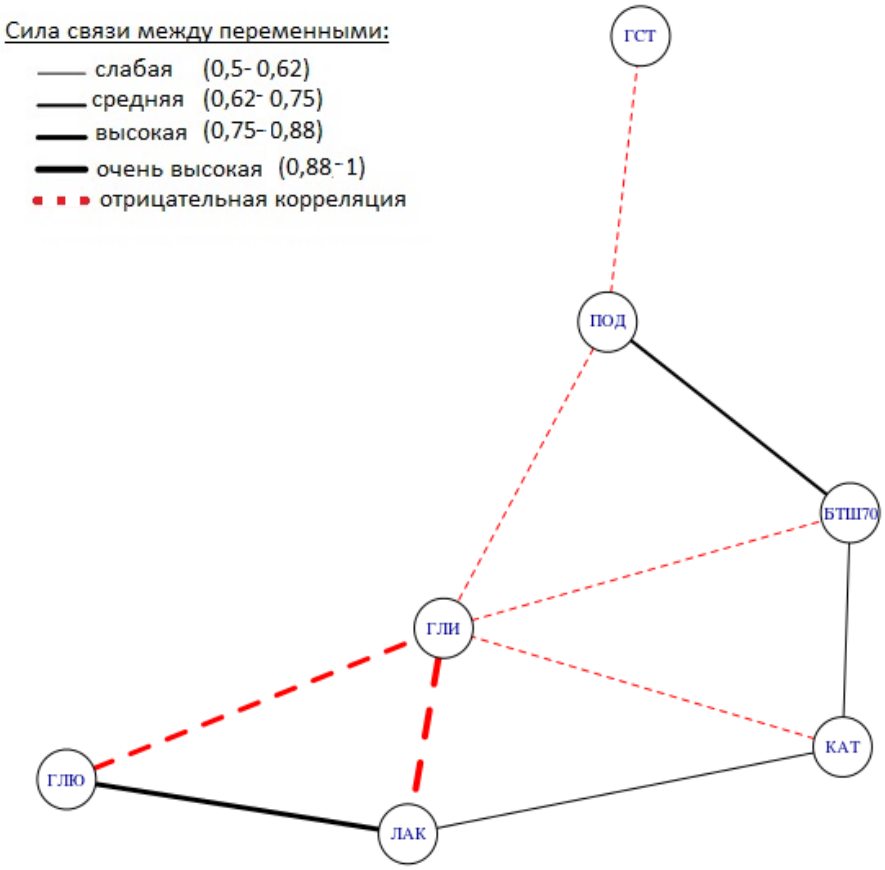

Рисунок 19. Корреляционный анализ динамики клеточных стресс-маркеров у амфипод вида *G. lacustris* из популяции заводи р. Ангара при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды.

Таблица 6.

Корреляционный анализ динамики клеточных стресс-маркеров у амфипод вида *G. lacustris* из популяции заводи р. Ангара при экспозиции в условиях постепенного изменения температуры среды.

	КАТ	ПОД	ГСТ	ГЛЮ	ГЛИ	ЛАК	БТШ70
КАТ		-0,04	-0,14	0,18	**-0,54**	**0,54**	**0,57**
ПОД	-0,04		**-0,57**	0,43	**-0,61**	0,36	**0,64**
ГСТ	-0,14	**-0,57**		-0,36	0,46	-0,14	-0,18
ГЛЮ	0,18	0,43	-0,36		**-0,86**	**0,86**	0,11
ГЛИ	**-0,54**	**-0,61**	0,46	**-0,86**		**-0,93**	**-0,54**
ЛАК	**0,54**	0,36	-0,14	**0,86**	**-0,93**		0,39
БТШ70	**0,57**	**0,64**	-0,18	0,11	**-0,54**	0,39	

Жирным шрифтом в таблице выделены коэффициенты корреляции выше 0,5 по модулю.

По данным корреляционного анализа у амфипод вида *G. lacustris* из популяции оз. Шира и *G. fasciatus* из популяции Финского залива в условиях постепенного изменения температуры среды, показаны сильные разнонаправленные корреляции между изменением активности каталазы и глутатион S-транферазы (r = - 0,61; r = 0,85, соответственно), содержанием ОШ и БТШ70 (r = - 0,71; r = 0,85, соответственно), а также корреляция меньшей силы между содержанием глюкозы и лактата (r = - 0,64; r = 0,58, соответственно). Эти данные подтверждают наше предположение о использовании амфиподами видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* различных стратегий биохимических адаптаций в условиях изменения температуры среды.

Кроме того, были обнаружены разнонаправленные корреляции у амфипод из пресноводной (заводь р. Ангара) и солоноводной (оз. Шира) популяций *G. lacustris* между содержанием глюкозы и лактата (r = - 064; r = 0,86, соответственно), содержанием гликогена и лактата (r = 0,54; r = - 0,93, соответственно). А также показаны положительные корреляции у представителей того же вида из пресноводной и солоноводной популяций, между активностью каталазы и содержанием БТШ70 (r = 0,54; r = 0,64, соответственно) в условиях изменения температуры среды.

У представителей вида *G. fasciatus* из мест интродукции (Финский залив, оз. Ладожское) показаны высокие положительные корреляции между содержанием ДК и лактата (r = 0,81; r = 0,63, соответственно). В то же время, у амфипод из популяций Финского залива и оз. Байкал отмечали отрицательную корреляцию между содержанием ТК и активностью глутатион S-транферазы (r = - 0,61; r = - 0,68, соответственно).

ОБЩЕЕ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенного исследования показывают, что у представителей исследуемых видов существуют различия в скорости и степени активации компонентов системы неспецифической защиты в ответ на изменение температуры, что непосредственно определяет степень резистентности организмов.

При оценке терморезистентности в условиях постепенного повышения температуры среды показано, что у амфипод *G. fasciatus* и *G. lacustris* уровень терморезистентности определяется показателями минерализации мест их обитания. Отмечено, что у представителей популяций, обитающих в более минерализованных водоемах, показатели терморезистентности выше, чем у представителей тех же видов, обитающих в водоемах с меньшей минерализацией.

Одними из важнейших маркеров, экологически соответствующих понятию температурного предела, и, как следствие, определяющих биогеографическое распределение видов, являются показатели активации анаэробного метаболизма, которые определяют верхние критические температуры аэробного метаболизма (Pörtner, Knust, 2007; Deutsch et al., 2015). В свою очередь, об активации анаэробного метаболизма можно судить по изменению содержания лактата у гидробионтов в условиях стрессового воздействия (Frederich, Pörtner, 2000; Vereshchagina et al., 2016).

Проведенное исследование показало различия в верхних критических температурах аэробного метаболизма у амфипод обоих исследуемых видов в условиях изменения температуры, свидетельством которого является накопление лактата. Следует отметить, что базовые уровни содержания лактата у представителей вида *G. fasciatus* из трех исследуемых популяций были в 5 раз выше, чем у представителей обеих популяций амфипод *G. lacustris*. В условиях эксперимента у представителей вида *G. fasciatus* из оз. Ладожское и Финского залива увеличение содержания лактата происходило в диапазоне температур 17-19 °C. В то же время у амфипод вида *G. lacustris*

увеличение содержания лактата отмечали при более высоких температурах: в диапазоне 25-27 °С для представителей популяции из заводи р. Ангара и 32-33 °С для амфипод из популяции из оз. Шира. При этом у *G. fasciatus* содержание лактата увеличилось в 3 раза, а у *G. lacustris* – более чем в 50 раз (рис. 5).

Ранее было показано, что на начальных этапах эксперимента, при незначительном отклонении температуры от оптимальных видоспецифичных для амфипод значений в условиях постепенной гипертермии, первой реакцией является усиление потребления кислорода (учащение дыхательных движений) и интенсификация процессов метаболизма (Jakob et al., 2013). В то время как при критическом отклонении температуры среды от оптимума, наблюдается снижение потребления кислорода и как следствие – подключение анаэробного гликолиза, необходимого для поддержания энергопродукции. Данная реакция характерна для многих ракообразных в стрессовых условиях (De Wachter et al., 1997; Hervant et al., 1999). В свою очередь, накопление продуктов анаэробного гликолиза, одним из которых является лактат, приводит к закислению внутренней среды организма, вызывая нарушения в функционировании высокомолекулярных структур клетки, которые способны выполнять свои функции только в определенном диапазоне pH (Wachter et al., 1997; Philp et al., 2005; Soldatov et al., 2009). Таким образом, меньший уровень накопления лактата позволяет представителям вида *G. fasciatus* поддерживать энергетический гомеостаз более длительное время с меньшим ущербом для организма. В результате, при возвращении амфипод данного вида к оптимальным условиям жизнедеятельности увеличивается возможность восстановления организма посредством преобразования (утилизации) образовавшегося лактата в глюкозу и гликоген (в результате процессов глюконеогенеза и гликонеогенеза), и частичного разложения до CO_2 и H_2O (Henry et al., 1994; Wachter, 1997). В то же время, у представителей вида *G. lacustris* уровень накопленного лактата настолько высок, что происходящие процессы нарушения метаболизма, вероятно, являются необратимыми.

При оценке показателей энергетического обмена у амфипод видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* в условиях постепенного повышения температуры среды показаны различия в направленности изменения уровня общей глюкозы. У представителей *G. fasciatus* из оз. Байкал и Финского залива наблюдали увеличение содержания глюкозы с повышением температуры среды, тогда как у *G. fasciatus* из ладожской популяции и *G. lacustris* из популяции оз. Шира уровень свободной глюкозы снижался. Однако изменение уровня гликогена отмечали только у представителей вида *G. fasciatus* из популяции оз. Байкал. Снижение содержания глюкозы и/или гликогена указывает на возрастающее расходование энергии в условиях температурного стресса и повышение интенсивности метаболизма (Pörtner et al., 2010). Повышение же уровня глюкозы является признаком достаточного обеспечения организма энергией и, вероятно, активно происходящих процессах гликогенолиза.

Показанные различия в изменении содержания свободной глюкозы, гликогена и лактата указывают на использование представителями видов *G. fasciatus* и *G. lacustris* из отдаленных популяций, разных стратегий адаптации энергетического метаболизма, которые, вероятно, были приобретены при вселении в водоемы с различными абиотическими и биотическими условиями среды.

Известно, что представители обоих исследуемых видов имеют хорошо развитую адаптивную пластичность (Panov, 1996; Yemelyanova et al., 2002; Vainio, Vainola, 2003; Березина, Панов, 2003; Березина, 2005; Тимофеев, 2010; Vereshchagina et al., 2016). Поэтому при расселении в новые места обитания данные виды способны приспосабливаться и выживать в крайне разнообразных, не типичных для данного вида, условиях. Очевидно, у амфипод вида *G. fasciatus* в основе таких локальных адаптаций и повышенной резистентности лежит способность к эффективному расходованию энергии и постепенному подключению компонентов неспецифической системы стресс-ответа, тогда как амфиподы вида *G. lacustris* имеют изначально больший запас

свободной глюкозы и при этом более высокую скорость энергозависимых биохимических реакций, что обусловлено экофизиологическими и эволюционными особенностями вида.

На следующем этапе работы оценивали изменение активности ферментов АОС у представителей вида *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания, в условиях экспозиции в широком градиенте изменения температур. В первую очередь необходимо отметить, что у амфипод *G. fasciatus* из оз. Ладожское отмечали высокий уровень базовой активности ферментов каталазы и глутатион S-трансферазы, которая была в 2 раза выше по сравнению с показателями у представителей данного вида из других исследуемых водоемов. У представителей вида *G. lacustris* из оз. Шира уровень базовой активность всех трех исследуемых ферментов АОС был выше в 2 раза, чем у амфипод из заводи р. Ангара. Высокий уровень активности данных ферментов может быть обусловлен особенностями гидрохимического состава, в первую очередь минерализацией и температурным режимом водоемов обитания. Повышенная активность ферментов АОС указывает на стресс-реакцию неспецифической защиты и повышение уровня АФК в клетке, инициируемых изменением ионного состава среды. В работе Е.В. Борвинской и др. (2011) на примере пресноводных рыб: щуки (*Esox lucius* L.), сига (*Coregonus lavaretus* L.) и плотвы (*Rutilus rutilus* L.) показано, что изменение минерализации в результате минерального загрязнения среды, приводит к увеличению активности глутатион S-трансферазы у всех исследуемых видов. Таким образом, длительное существование представителей исследуемых в работе видов в не характерных для них условиях, а именно условиях измененного ионного состава воды, могло приводить к повышению активности ферментов АОС, направленному на поддержание химического постоянства внутренней среды организма и его целостности (Донцов и др., 2006; Тимофеев, 2010).

При экспозиции *G. fasciatus* в условиях постепенной гипо- и гипертермии изменения активности всех трех исследуемых ферментов

наблюдали только у амфипод из Финского залива. Так, в ходе проведенного исследования показано снижение активности каталазы и глутатион S-трансферазы, а также увеличение активности пероксидазы. Как уже отмечали в главе 1.2.2, пероксидаза является ферментом, участвующим в первичном этапе элиминации АФК. Стоит отметить, что, имея сходные функциональные характеристики с каталазой, пероксидаза более широко распространена в клетке и за ее пределами, а также характеризуется большим количеством изоформ с широким диапазоном специфичности (Чеснокова и др., 2006). В связи с этим, по-видимому, увеличение активности пероксидазы и снижение активности каталазы у *G. fasciatus* из популяции Финского залива свидетельствует о попытках экономии энергии организма в условиях стресса и концентрацию основных ресурсов на более эффективном использовании ферментов АОС.

У представителей *G. fasciatus* из оз. Ладожское отмечали изменения в активности двух ферментов АОС. Так, в условиях постепенного повышения температуры среды наблюдали снижение активности каталазы, тогда как активность глутатион S-трансферазы возрастала. Известно, что семейство ферментов глутатион S-трансфераз отвечает за индивидуальную чувствительность организма к токсичным веществам, таким как различные полиароматические углеводороды, хлорированные бифенилы, тяжелые металлы и др. и активно участвует в их обезвреживании (Padros et al., 2003; Ahmad et al., 2006; Cazenave et al., 2006). Температура, влияя на интенсивность обмена веществ гидробионтов, соответственно влияет и на степень токсического воздействия ксенобиотиков различной природы. Так, в ряде работ было показано, что отклонение температуры среды от оптимальных для организма значений приводит к снижению его токсикорезистентности по отношению к неорганическим и органическим загрязняющим веществам (Abdel-Lateif et al., 1998; Kir et al., 2004; Camus et al., 2004; Khan et al., 2006; Osterauer et al., 2008).

У амфипод вида *G. lacustris* из оз. Шира в условиях постепенного непрерывного изменения температуры среды наблюдали снижение активности пероксидазы, тогда как у представителей данного вида из заводи р. Ангара реакции исследуемых ферментов АОС не отмечали. Снижение активности пероксидазы выступает в качестве механизма, направленного на экономию энергии для перенаправления ресурсов другим механизмам резистентности для обеспечения оптимального уровня клеточной защиты при температурном стрессе.

Помимо оценки влияния постепенной гипо- и гипертермии на активацию ферментов АОС (маркеров оксидативного стресса), в ходе диссертационного исследования, также была проведена оценка изменений содержания стрессовых белков семейства БТШ70 (маркера клеточных повреждений) у представителей вида *G. fasciatus* и *G. lacustris* из различных мест обитания. Таким образом, увеличение содержания БТШ70 отмечали у представителей *G. fasciatus* из популяции оз. Байкал и *G. lacustris* из популяции заводи р. Ангара. У представителей *G. fasciatus* из байкальской популяции повышение содержания БТШ70 происходило дважды: при достижении диапазонов температур 9-11 °С и 25-31 °С. У *G. lacustris* из популяции заводи р. Ангара увеличение содержания БТШ70 отмечали лишь к концу экспозиции, в диапазоне температур 29-32 °С. Необходимо отметить, что увеличение содержания БТШ70 у *G. fasciatus* было небольшим – в 2 раза, тогда как у *G. lacustris* зафиксировано пятикратное накопление БТШ70. Снижение содержания БТШ70 было отмечено только у амфипод *G. fasciatus* из популяции Финского залива в условиях гипертермии (9-15 °С) и у представителей ладожской популяции в условиях гипотермии (0,5-2°С). Таким образом, накопление БТШ70 у амфипод из пресноводных популяций *G. fasciatus* (оз. Байкал) и *G. lacustris* (заводь р. Ангара) при повышении температуры среды свидетельствует о подключении данного механизма защиты. Дополнительный синтез БТШ70 в первую очередь направлен на поддержание нативной конформации и функциональной активности белков в

условиях стрессового воздействия (Sokolova, 2004; Tomanek, 2010). Тот факт, что у представителей двух исследуемых популяций *G. fasciatus* из водоемов интродукции и *G. lacustris* из популяции оз. Шира не происходит индукции синтеза БТШ70 в условиях постепенного изменения температуры среды, указывает на то, что существуют межпопуляционные и межвидовые различия в регуляции экспрессии и синтеза данных белков, связанные с температурным режимом среды обитания или другими абиотическими факторами.

Оценка окислительных процессов у представителей вида *G. fasciatus* и *G. lacustris* в условиях постепенного изменения температуры показала, что увеличение уровня продуктов ПОЛ в фосфолипидах происходит лишь у представителей *G. fasciatus* из Финского залива. Так, показано увеличение содержания вторичных продуктов ПОЛ – триеновых конъюгатов при увеличении температуры среды. Как было рассмотрено в главе 1.2.3, активация процессов ПОЛ в мембранах ведет к уменьшению содержания липидов, смене микровязкости и электростатического заряда. Окисление фосфолипидов приводит к нарушениям в структуре липидного бислоя и образованию дефектных зон в мембранах клеток, что непосредственно нарушает их функциональную активность. В свою очередь, нарушение структуры мембран ведет к изменениям в функционировании мембрансвязанных белков и ионных каналов и влечет за собой нарушения в метаболизме клетки и снижении ее жизнеспособности (Немова, Высоцкая, 2004; Немова, 2010; Gelpi, 2016). Однако, несмотря на показанное значимое повышение ТК у амфипод *G. fasciatus* из Финского залива, необходимо отметить, что у представителей обоих исследуемых видов многократного накопления продуктов ПОЛ не наблюдали. Это свидетельствует о том, что данные виды обладают эффективными антиоксидантными механизмами, снижающими уровень ПОЛ, а также и продуктивными механизмами метаболизации продуктов СРО, образующихся в результате стрессового оксидативного воздействия.

Полученные данные подтверждают, что представители обоих исследованных видов имеют широкий диапазон толерантности по отношению к исследуемым факторам среды. Показано, что высокая степень экологической валентности амфипод *G. fasciatus* и *G. lacustris* базируется на их возможности к внутривидовой адаптивной пластичности на уровне биохимических процессов. Показанные особенности работы энергетического метаболизма и элементов неспецифической стресс-адаптации у представителей амфипод вида *G. fasciatus и G. lacustris* из отдаленных популяций, свидетельствуют об использовании ими различных стратегий биохимических адаптаций, которые сформировались при их расселении в новые водоемы с различной минерализацией и температурным режимом.

ВЫВОДЫ

1. Степень терморезистентности популяций исследуемых видов амфипод определяется уровнем минерализации водоема обитания. Показано, что представители популяций видов *G. fasciatus* и *G. lacustris*, обитающие в водоемах с более высокой минерализацией (Финский залив, оз. Шира), более терморезистентны по сравнению с представителями популяций из менее минерализованных водоемов (оз. Байкал, оз. Ладожское, заводь р. Ангара);
2. Установлены межвидовые и межпопуляционные различия процессов обеспечения энергией у представителей исследуемых видов в условиях постепенного изменения температуры среды. Значения верхних критических температур аэробного метаболизма у амфипод вида *G. fasciatus* ниже, чем у *G. lacustris* из всех исследуемых популяций. В свою очередь у особей вида *G. fasciatus*, обитающих за пределами естественного ареала, значения верхних критических температур аэробного метаболизма ниже, чем у амфипод из естественного ареала;
3. Установлены различия в динамике активности ферментов АОС у амфипод исследуемых видов в условиях постепенного изменения температуры среды. Показано, что изменения активности ферментов АОС происходят у представителей вида *G. fasciatus* из водоемов интродукции (Финский залив, оз. Ладожское), в то время как у особей вида *G. lacustris* увеличение активности данных ферментов не происходит;
4. Выявлены видоспецифичные особенности динамики содержания стрессовых белков семейства БТШ70 в условиях постепенного изменения температуры среды. Показано, что у амфипод вида *G. fasciatus* повышение содержания БТШ70 происходит раньше (при меньших отклонениях температуры среды от оптимума вида), но в меньшей степени, в отличие от таковой у представителей вида *G. lacustris*;

5. Амфиподы обоих исследуемых видов обладают эффективной системой антиоксидантной защиты в условиях постепенного изменения температуры среды, что подтверждается отсутствием накопления продуктов ПОЛ;

6. Представители вида *G. fasciatus* обладают более высокими адаптивным возможностями и конкурентоспособностью при повышении температуры по сравнению с представителями голарктического *G. lacustris*.

Список литературы

Аладин Н.В., Плотников И.С. Концепция относительности и множественности зон барьерных соленостей и формы существования гидросферы // Труды Зоологического института РАН. 2013. Т. 317. Приложение 3. С. 7-21.

Алекин О.А. Химический анализ вод суши при стационарном их изучении. Л.: Гимиз. 1964. 200 с.

Алиева В.И., Загорулько Н.А. Влияние природных и техногенных факторов на гидрохимический состав рек промышленной зоны г. Иркутска // Вода: химия и экология. 2013. № 6. С. 16-21.

Алимов А.Ф., Панов В.Е., Флоринская Т.М., Емелькина Е.Г. Охрана водной системы: Ладожское озеро – река Нева – Невская губа – восточная часть Финского залива от биологического загрязнения // Экологическая безопасность Санкт-Петербурга. С-Петербург: ЗИН РАН. 2002. С. 16 –24.

Амонтов А.В., Спиридонов М.А. Геология Ладожского озера // Сов. геология. 1989. № 4. С. 83-86.

Архипцева Н.Т., Баранов И.В., Забелина Г.М., Покровский В.В., Родионова Н.В. Озера бассейна Ладожского озера // Изв. ГосНИОРХ. 1977. Т. 124. С. 47-70.

Арчаков А.И. Микросомальное окисление М.: Наука. 1975. 327 с.

Атлас определитель пелагобионтов оз. Байкал (под ред. О.А. Тимошкина). Новосибирск: Наука, 1995. 693 с.

Базикалова А.Я. Амфиподы озера Байкал // Тр. Байк. лимнол. станции АН СССР. 1945. Т. 11. С. 1–440.

Базикалова А.Я. Материалы по изучению амфипод Байкала. Поглощение кислорода // Изв. АН СССР. Серия биология. 1941. № 1. С. 151 – 158.

Базикалова А.Я. Осморегуляторные способности бокоплавов оз. Байкал // Доклады академии наук СССР. 1946. Т. LIII. № 4. С. 381-384.

Базова Н.В. Байкальский бокоплав *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.) в озере Гусиное (Бурятия) и его распространение в водоемах Восточной Сибири // Экологические, физиологические и паразитологические исследования пресноводных амфипод: Сборник научных трудов / Отв. ред. В.В. Тахтеев. – Иркутск: Иркут. ун-т. 2002. С. 18-26.

Балаболкин М.И., Клебанова Е. М. Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений диабета // Проблемы эндокринологии. 2000. Т. 46. № 6. С. 29-34.

Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г., Кудряшов Ю.Б. Перекисное окисление и стресс. Наука. С.-Петерб. отд-ние, 1992. 148 с.

Барабой В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи современной биологии. 1991. Т. 111. № 6. С. 923-932.

Барбашова М. А., Малявин С. А., Курашов Е. А. Находка байкальской амфиподы *Micruropus possolskii* Sowinsky, 1915 (Amphipoda, Crustacea) в Ладожском озере // Российский журнал биологических инвазий. 2013. Т. 6. № 3. С. 16-23.

Бекман М.Ю. Экология и продукция *Micruropus possolskii* (Saw) и *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.) // Труды Лимнологического института. 1962. Т. 2 (22), ч. 1. С. 141-155.

Бекман М.Ю., Базикалова А.Я. Биология и продукционные возможности некоторых байкальских и сибирских бокоплавов // Тр. Проблемных и тематических совещаний ЗИН: Проблемы гидрологии внутренних вод. Л., 1951. Вып. 1. С. 61 – 67.

Березина Н.А., Панов В.Е. Вселение байкальской амфиподы *Gmelinoides fasciatus* (Amphipoda, Crustacea) в Онежское озеро // Зоол. журн. 2003. Т. 82. № 6. С. 731-734.

Березина Н.А., Хлебович В.В., Панов В.Е., Запорожец Н.В. Соленостная резистентность интродуцированной в бассейн Финского залива (Балтийское море) амфиподы *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.) // Доклады академии наук. 2001. Т. 37. № 3. С. 414-416.

Биологическое окисление и биоэнергетика. Методическое пособие для самостоятельной работы студентов лечебного, педиатрического, стоматологического и фармацевтического факультетов// Под редакцией А.А. Терентьева, М.: РГМУ. 2012. 73 с.

Биохимия человека. В 2–х томах / Р. Марри, Д. Греннер // М.: Мир. 1993. Т.1. 384 с.

Бирштейн Я.А. Высшие раки (Malacostrata) // Жизнь пресных вод. 1940. Т.1. С. 405-430.

Болдаруева Н.В. Зообентос // Экология озера Гусиное // Ред. Корсунов В.М. Улан-Удэ: БНЦ СО РАН. 1994. С. 86-93.

Бондарь Т.Н., Ланкин В. З., Антоновский В. Л. Восстановление органических гидропероксидов глутатионпероксидазой и глутатион-S-трансферазой: влияние структуры субстрата // ДАН СССР. 1989. № 1. С. 217-220.

Борвинская Е.В., Немова Н.Н., Смирнов Л.П. Глутатион-S-трансфераза у рыб северных водоемов: влияние минерализации водной среды // Доклады Академии наук. – Федеральное государственное унитарное предприятие" Академический научно-издательский, производственно-полиграфический и книгораспространительский центр "Наука", 2011. Т. 436. № 4. С. 566-568.

Бородич Н.Д. Байкальский бокоплав *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.) (Amphipoda, Gammaridae) в Куйбышевском водохранилище // Зоол. журн. 1979. Т. 58. № 6. С. 920-921.

Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты // Успехи химии. 1985. Т. 54. № 9. С. 1540-1558.

Вербицкий В.Б., Березина Н.А. Возможности распространения байкальской амфиподы *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.) в связи с особенностями ее температурной и соленостной толерантности // VIII съезд Гидробиологического общества РАН – Т. II. Тез. докл. Калининград, Россия, 16-23 сентября 2001 г. Калининград: КГТУ. 2001. С 72.

Верещагин Г.Ю. Байкал. М.: Географгиз. 1949. 348 с.

Верещагин Г.Ю. Происхождение и история Байкала, его фауны и флоры // Тр. Байкальской лимнологической станции АН СССР. 1940. Т. 10. С. 85 – 112.

Вершивин Н.В., Сычева А.В. Формирование кормовых ресурсов и использование их рыбами в процессе заполнения Братского водохранилища // Тр. Красноярск. отдел. СибНИИРХ. 1967. Т. 9. С. 410-476.

Веселова М.Ф., Кириллова В.А. Климатические особенности Ладожского озера // Гидрологический режим и водный баланс Ладожского озера. Тр. лаб. озеровед. ЛГУ. Т. XX. Л.: Изд-во ЛГУ. 1966. С. 81-103.

Визер А.М. Результаты вселения байкальских гаммарид в Новосибирское водохранилище // Рыбное хоз-во. 1981. № 4. С. 47-48.

Владимиров Ю.А., Поглазов А.Ф. Структурная организация мембраны // Биологические мембраны. 1973. С. 7-47.

Водные ресурсы Ширинского района Республики Хакасия / под. ред. В.П. Парначева. Томск: Изд-во Том. Ун-та, 1999. 171 с.

Волков В.М. Исследование реакции избегания байкальским гаммарусом некоторых компонентов сточных вод // IV Всес. Симпозиум — Борок 1983: Тез. докл. Поведение водных беспозвоночных, Борок, 1983. С. 100-101.

Вотинцев К.К. Гидрохимия озера Байкал. М.: Изд-во АН СССР. 1961. 311 с.

Гаврилов Г.Б. К вопросу о времени размножения амфипод и изопод оз. Байкал // Докл. АН СССР. 1949. Т. LXIV. № 5. С. 739 – 742.

Галазий Г.И. Байкал в вопросах и ответах. Иркутск: Восточно-Сибирское книжное изд-во, 1987. 384 с.

Галышева Ю.А. Экологические факторы морской среды: учебное пособие // Владивосток: изд-во Дальневосточного университета. 2009. 99 с.

Гигиняк Ю. Г., Мороз М. Д., Власов Б. П. Экологическая обусловленность видового разнообразия в водоемах с различной минерализацией // Доклады Национальной академии наук. 2002. Т. 46. № 6. С. 64-66.

Голубев А.П., Бодиловская О. А., Годун Е.В., Слесарева Л.Е., Столяр О.Б. Способность большого прудовика *L. stagnalis* (Gastropoda, Pulmonata) к длительному самооплодотворению как фактор его популяционной стабильности // Прісноводна гідробіология. 2010. Т. 2. № 43. С. 98 – 101.

Государственный доклад о состоянии окружающей среды Республики Карелия в 2015 году / Министерство по природопользованию и экологии Республики Карелия. Редакционная коллегия: А.Н. Громцев, О.Л. Кузнецов, Г.Т. Шкиперова, Т.Б. Ильмаст. Петрозаводск, 2016. 300 с.

Грандилевская-Дексбах М.Л., Еременко А.Р., Шилкова Е.В. Акклиматизация мизид и других кормовых беспозвоночных в Ириклинском водохранилище // Гидробиол. журн. 1978. Т. 19. № 6. С. 28-33.

Давыдов Л.К., Дмитриева А.А., Конкина Н.Г. Общая гидрология. Л.: Гидрометеоиздат, 1973. 463 с.

Давыдова Н.Н. О некоторых природных особенностях Ладожского озера // Растительные ресурсы Ладожского озера. Труды лаб. озеров. ЛГУ. Т. XXI. Л.: Изд. ЛГУ. 1968. С. 5-15.

Дедю И.И. Амфиподы пресных и солоноватых вод юго-запада СССР. Кишинев: Штиинца, 1980. 221 с.

Дерюгина А.В., Корягин А.С., Копылова С.В., Таламанова М.Н. Методы изучения стрессовых и адаптационных реакций организма по показателям системы крови: Методическое пособие. Нижний Новгород: Издательство Нижегородского госуниверситета. 2010. 25 с.

Детлаф Т.А. Температурно–временные закономерности развития пойкилотермных животных. М.: Наука. 2001. 211 с.

Довженко Н.В., Куриленко А.В., Бельчева Н.Н., Челомин В.П. Окислительный стресс, индуцируемый кадмием, в тканях двустворчатого моллюска *Modiolus modiolus* // Биология моря. 2005. Т. 31. № 5. С. 358-362.

Донцов В.И. Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении // Тр. Института системного анализа Российской академии наук. 2006. Т. 19. С. 50–69.

Дроздов В.В. Общая экология. СПб.: РГГМУ, 2011. С. 91-93.

Ербаева Э.А., Сафронов Г.П. *Gammarus lacustris* Sars водоемов Восточной Сибири // Вид и его продуктивность в ареале: Материалы V Всесоюз. Совещ. Вильнюс, 1988. С. 239 – 240.

Ермолаева Н.И. Водные экосистемы. Особенности формирования зоопланктона водохранилищ // Экология. Серия аналитических обзоров мировой литературы. 2008. № 88. С. 1-69.

Жемчужина Хакасии (природный комплекс Ширинского района) / под ред. В.П. Парначева, И.В. Букатина Абакан: Изд-во Хакасского гос. ун-та им. Н.Ф. Катанова, 1997. 180 с.

Жибоедов П.М., Жиров В.К., Руденко С.М. Белковый состав и мембранные липиды интродуцированных растений в Заполярье. Кольский филиал АН СССР. 1987. 114 с.

Журавлев А.И. Развитие идей Б.Н. Тарусова о роли цепных процессов в биологии // Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М.: Наука, 1982. С. 3-37.

Задоенко И.Н., Лейс О.А., Григорьев В.Ф. Результаты и перспективы акклиматизации байкальских гаммарид в водоемах СССР // Сб. научных трудов ГосНИОРХ № 232. 1985. С. 30-34.

Зайцев В.Г., Закревский В.И. Методологические аспекты исследований свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 1998. Т. 54. № 4. С. 49-53.

Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты. М.: Наука. Интерпериодика. 2001. 340 с.

Зубов Н. Н. Динамическая океанология. Москва: Гидрометеоиздат, 1947. 430 с.

Иоффе Ц.И. Обогащение кормовой базы для рыб в водохранилищах СССР путем акклиматизации беспозвоночных // Изв. ГосНИОРХ. 1974. Т. 100. С. 3-206.

Казимирко В.К., Мальцев В.И., Бутылин В.Ю. Свободно–радикальное окисление и антиоксидантная терапия. Киев: Морион. 2004. 160 с.

Квасов Д.Д. Позднечетвертичная история крупных озер и внутренних озер Восточной Европы. Л.: Наука. 1975. 278 с.

Клопотова Г.Г. Гидроминеральные лечебные ресурсы озер Минусинской котловины: автореф. дис. …канд. геогр. наук. Томск, 2004. 25 с.

Кожов М.М. Животный мир озера Байкал // Иркутск: ОГИЗ, 1947. 303 с.

Козляткин А.Л. Введение в экосистему Бухтарминского водохранилища ракообразных из отдаленных зоогеографических зон. Рыбные ресурсы водоемов Казахстана и их использование // Рыбные ресурсы водоемов Казахстана и их использование. Алматы. 1993. С. 78-83.

Колесниченко А.В., Войников В.К. Белки низкотемпературного стресса растений. Иркутск: Арт–Пресс. 2003. 196 с.

Колесниченко Л.С., Кулинский В.И. Глутатионтрансферазы // Успехи современной биологии. 1989. Т. 107. № 2. С. 179-194.

Константинов А.С. Общая гидробиология. М.: Высшая школа, 1986. 472 с.

Костеша Н.Я., Гулик Е.С., Борило Г.А. Влияние хитабиса на антиоксидантную активность плазмы крови и кишечной слизи крыс // 2-й съезд физиологов СНГ. Кишинев: НТЛ, 2008. С. 161.

Кудерский Л.А., Румянцев В.А., Драбкова В.Г. Экологическое состояние водной системы Онежское озеро-Ладожское озеро-река Нева // Финский залив в канун XXI века. СПб.: ИНОЗ РАН. 2000. 160 с.

Кузьмич В.Н., Синицин Г.К. Продуктивность зообентоса озера Котокель // Сб. научн. тр. ГосНИОРХ. Вып. 279. 1988. С. 88 -105.

Кулаева О.Н. Белки теплового шока и устойчивость растений к стрессу // Соросовский образовательный журнал. 1997. № 2. С. 5–13.

Купцова Н.С. Химический анализ воды финского залива в районах за дамбой // Профилактическая медицина-2016: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 15–16 ноября 2016 года / под ред. А.В. Мельцера, И.Ш. Якубовой. Ч. 1. СПб.: Изд-во СЗГМУ им. 2016. 314 с.

Курганова Л.Н. Перекисное окисление липидов - одна из возможных компонент быстрой реакции на стресс // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Серия: Биология. 2001. С. 74-76.

Кусковский В.С., Кривошеев А.С. Минеральные озера Сибири (юг Красноярского края). Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1989. 200 с.

Кухарев В.И., Полякова Т.Н., Рябинкин А.В. Распространение байкальской амфиподы *Gmelinoides fasciatus* (Amphipoda, Crustacea) в Онежском озере // Зоологический журнал. 2008. Т. 87. № 10. С. 1270-1273.

Ланкин В.З., Тихазе А.К., Осис Ю.Г., Вихерт А.М., Шеве Т., Рапопорт С. Ферментативная регуляция перекисного окисления липидов в биомембранах: роль фосфолипазы А2 и глутатионтрансферазы // Докл. АН СССР.1985. Т. 281. № 1. 204 с.

Ленинджер А. Основы биохимии. М.: Мир, 1985. Т. 2. 368 с.

Магомедов У.Б. Теплопроводность воды и ее зависимость от плотности при высоких параметрах состояния // Известия Российской академии наук. Энергетика. 2002. № 3. С. 163-165.

Матафонов Д.В., Итигилова М.Ц., Камалтынов Р.М., Фалейчик Л.М. Байкальский эндемик *Gmelinoides fasciatus* (Micruropodidae, Gammaroidea, Amphipoda) в озере Арахлей // Зоологический журнал. 2005. Т. 84. № 3. С. 321-329.

Матафонов Д.В. Сравнительная экология бокоплавов: *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899) и *Gammarus lacustris* (Sars, 1863) в Ивано-Арахлейских озерах. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Улан-Удэ. 2003. 20 с.

Меерсон Ф.З., Салтыкова В.А., Диденко В.В., Савов В.М., Каган В.Е., Смирнова Л.Д. Роль перекисного окисления липидов в патогенезе аритмий и

антиаритмогенное действие антиоксидантов // Кардиология. 1984. Т. 5. С. 61-68.

Мельник М.М., Михайлов А.Е. Особенности биологии бокоплава *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.) в Псковско-Чудском озере // VIII съезд Гидробиологического общества РАН – Т. II. Тез. докл. Калининград, Россия, 16-23 сентября 2001 г. Калининград: КГТУ. 2001. С. 85.

Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М.: Слово. 2006. 553 с.

Мицкевич О.И. Оценка результатов акклиматизации байкальского бокоплава *Gmelinoides fasciatus* Stebb. в водоемах европейской части СССР // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1984. Т. 223. С. 73–78.

Мицкевич О.И. Эколого-физиологические и продукционные особенности гаммарид, акклиматизируемых в озера северо-запада (на примере *Gmelinoides fasciatus* Stebb. и *Chaetogammarus ischnus* Stebb.). Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Ленинград. 1987. 21 с.

Мордухай-Болтовской Ф.Д., Чиркова З.Н. О распространении байкальского бокоплава *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing) в Горьковском водохранилище // Биология внутренних вод: Информ. Бюл. 1971. № 9. С. 38 – 41.

Кольман Я., Рем К.Г. Наглядная биохимия: Учебное пособие для студентов вузов // М.: Мир, 2000. 469 с.

Курашов Е.А., Барков Д.В., Анисимов А.А. Роль байкальского вселенца *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.) в формировании литоральных биоценозов острова Валаам (Ладожское озеро) // Биология внутренних вод. 2006. № 1. С. 74-84.

Курашов Е.А., Барбашова, М. А., Барков, Д. В., Русанов, А. Г., Лаврова, М.С. Инвазивные амфиподы как фактор трансформации экосистемы Ладожского озера // Российский журнал биологических инвазий. 2012. Т. 5. № 2. С. 87-104.

Кухарев В. И., Полякова Т. Н., Рябинкин А. В. Распространение байкальской амфиподы *Gmelinoides fasciatus* (Amphipoda, Crustacea) в Онежском озере // Зоологический журнал. 2008. Т. 87. № 10. С. 1270-1273.

Наградова Н.К. Внутриклеточная регуляция формирования нативной пространственной структуры белков // Соросовский образовательный журнал. 1997. № 7. С. 10–18.

Наградова Н.К., Муронец В.И. Мультидоменная организация ферментов // Итоги науки и техники. Сер. биологическая химия. 1991. Т. 38. С. 162.

Науменко М.А. Новое определение морфометрических характеристик Ладожского озера // Докл. РАН. 1995. Т. 345. № 4. С. 514-517.

Науменко М.А., Гузиватый В.В., Каретников С.Г. Ежедневные средние пространственные распределения температуры поверхности воды Ладожского озера с мая по ноябрь // Ладожское озеро. Мониторинг, исследование современного состояния и проблемы управления Ладожским озером и другими большими озерами. Петрозаводск. 2000. С. 335—345.

Нежиховский Р.А. Вопросы гидрологии реки Невы и Невской губы. Ленинград, 1988. 224 с.

Нежиховский Р.А. Река Нева. Л.: Наука. 1955. 140 с.

Немова Н.Н. Механизмы биохимических адаптаций у водных организмов: экологические и эволюционные аспекты // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. 2010. Т. 1. С. 198-214.

Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. Биохимическая индикация состояния рыб. – Наука, 2004. С. 215

Нестерович А.И. Влияние температурного режима водоема на модель размножения *Gammarus lacustris* Sars // Вид в ареале биология, экология и продуктивность водных беспозвоночных. Мн.: Навука і тэхніка. 1990. С. 42 – 49.

Нестерович А.И., Рощин В.Е. Особенности размножения *Gammarus lacustris* (Sars) в прибайкальском водоеме // Проблемы экологии Прибайкалья: Тез. докл. Иркутск, 1988. С. 72.

Никольский Г.В. Экология рыб. М.: Высшая школа, 1974. 356 с.

Нилова О.И. Некоторые черты экологии и биологии *Gmelinoides fasciatus* Stebb., акклиматизированных в озере Отрадное Ленинградской области // Известия Гос. НИИОиРРХ. Ленинград, 1976. Т. 110. С. 10-15.

Одум Ю. Основы экологии. М.: Мир, 1975. 740 с.

Озернюк Н.Д. Температурные границы жизни. Природа. 2003. № 2. С. 56–61.

Орлова М.И., Панов В.Е., Крылов П.И., Телеш И.В., Хлебович В.В. Изменения в планктонных донных сообществах восточной части Финского залива Балтийского моря в связи с биологическими инвазиями // Тр. ЗИН. Т. 279. 1999. С. 305-325.

Павличенко В.В., Шатилина Ж.М., Бедулина Д.С., Протопопова М.В., Сапожникова Е.А., Аксенов-Грибанов Д.В., Тимофеев М.А. Накопление лактата и белков теплового шока (БТШ) при остром температурном стрессе у байкальских термочувствительных *Eulimnogammarus vittatus* и *Eulimnogammarus marituji* (Crustacea, Amphipoda) // Амурский зоологический журнал. 2009. Т. 1. № 3. С. 190–196.

Палеолимнологические реконструкции: Байкальская рифтовая зона / С.М. Попова, В.Д. Мац, Г.П. Черняева // Новосибирск: Наука, 1989. 109 с.

Панасенко О.О., Ким М.В., Гусев Н.Б. Структура и свойства малых белков теплового шока // Успехи биологической химии. 2003. Т. 43. № 1. С. 59-98.

Панов В. Е. Байкальская эндемичная амфипода *Gmelinoides fasciatus* Stebb. в Ладожском озере // Доклады Академии наук. 1994. Т. 336. № 2. С. 279-282.

Пианка Э. Эволюционная экология. М.: 1981. 400 с.

Плеханов А.Ю., Подлипаева Ю.И., Иванова Л.О. Белок теплового шока пресноводных простейших и его участие в адаптации к изменению солености среды обитания // Цитология. 2006. Т. 48. № 6. С. 530–534.

Побежимова Т.П., Колесниченко А.В., Грабельных О.И. Методы изучения митохондрий растений. Полярография и электрофорез. М, 2004. 98 с.

Подлипаева Ю.И., Гиличинский Д.А., Гудков А.В. Белок теплового шока семейства HSP70 у некоторых современных амеб (Amoebidae) и у акантамеб полученных из цист выделенных из многолетнемерзлых пород // Цитология. 2006. Т. 48. № 8. С. 691-694.

Попов Е.А. Атмосферные осадки на Ладожском озере // Гидрологический режим и водный баланс Ладожского озера. Тр. лаб. озеровед. ЛГУ. Т. XX. Л.: Изд-во ЛГУ. 1966. С. 104-118.

Попов Е.А. Физико-географическая характеристика шхерной части Ладожского озера // Тр. Лаб. озеровед. АН СССР. 1961. Т. XII. С. 15-31.

Путеводитель по природным водам полигона учебных геологических практик в Северной Хакасии / Ю.Г. Копылова, Е.М. Дутова, Б.Д. Васильева, О.В. Лысова, И.В. Сметанина, О.А. Мачкасова, А.А. Хващевская. Томск: Изд-во ТПУ, 2005. 152 с.

Расплетина Г.Ф., Ульянова Д.З., Шерман Э.Э. Гидрохимия Ладожского озера // Гидрохимия и гидрооптика Ладожского озера. Тр. лаб. озеровед. АН СССР. Т. 23. Л.: Наука. 1967. С. 60-122.

Ризеский С.В., Голубев А.П., Бодиловская О.А., Курченко В.П. Роль особенностей размножения *L. stagnalis* в сохранении очагов церкариоза // Известия Самарского научного центра РАН. 2011. Т. 13. № 5. С. 106–108.

Рогожин В.В. Пероксидаза как компонент антиоксидантной системы живых организмов. Санкт–Петербург: ГИОРД. 2004. 240 с.

Россолимо Л. Л. Температурный режим озера Байкал // Труды Байкальской Лимнологической станции АН СССР. 1957. Т. 16. 240 с.

Рубин А.Б., Пытьева Н.Ф., Ризнеченко Г.Ю. Кинетика биологических процессов. разное. 2-е изд., испр. и доп. М. 1987, 304 с.

Русинек О.Т., Тимошкин О.А., Ситникова Т.Я. Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна // В 2 т. Новосибирск: Наука. 2004. 1679 с.

Рыбалко А.Е., Федорова Н.К. Донные отложения эстуария реки Невы и их загрязнение под влиянием антропогенных процессов // Экосистема эстуария реки Невы: биологическое разнообразие и экологические проблемы. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2008. С. 39-59.

Саватеева Е.Б. Результаты вселения байкальских бокоплавов и понтокаспийских мизид в озеро Ильмень // Сб. научн. Трудов ГосНИОРХ. Т. 232. 1985. С. 3-15.

Сафронов Г.П. К экологии *Gmelinoides fasciatus* Братского водохранилища // III Всесоюзн. Конф. «Проблемы экологии Прибайкалья». Иркутск, 5 – 10 сентября, 1998. Тез. докл. С. 83.

Сафронов Г.П. Состав и экология видов рода *Gammarus fabricius* Юга Восточной Сибири: Дис. канд. биол. наук, Иркутск. 1993. 176 с.

Селье Г., Саарма Ю.М., Лука А.Н., Хорол И.С. Стресс без дистресса. Прогресс, 1979. 126 с.

Скальская И.А. Беспозвоночные-вселенцы в перифитоне и бентосе верхневолжских водохранилищ (обзор) // Биология внутренних вод. 2008. № 2. С. 62-73.

Скальская И.А. Заселение байкальским бокоплавом водоемов Верхней Волги // Экологические проблемы бассейнов крупных рек – 2. Тез. докл. Тольятти, Россия, 14-18 сентября 1998 г. Тольятти: ИЭБВ РАН. 1998. С. 244-245.

Смуров А.О., Гудков А. В., Подлипаева Ю.И. Белок теплового шока семейства Hsp70 у эвригалинной инфузории *Paramecium nephridiatum* и его участие в адаптации к изменению солености среды // Цитология. 2007. Т. 49. № 4. С. 292-295.

Снимщиков Л.Н. Бентос Истокского сора // Лимнология прибрежно-соровой зоны Байкала. Новосибирск: Изд-во «Наука». 1977. С. 191 – 198.

Соколовский В.В. Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции организма на экстремальное воздействие // Вопросы медицинской химии. 1988. Т. 34. № 6. С. 2-11.

Соловьева Н.В. Элементы химического баланса Ладожского озера // Гидрохимия и гидрооптика Ладожского озера. Тр. лаб. озеровед. АН СССР. Т. 23. Л.: Наука. 1967. С. 123-155.

Степановских А.С. Прикладная экология: охрана окружающей среды // Юнити. 2003. 751 с.

Тахтеев В. В., Галимзянова А. В. Байкальские родники // Экология и жизнь. 2009. Т. 3. № 88. С. 40-45.

Тахтеев В.В. Автохтонное развитие фауны бокоплавов (Crustacea Amphipoda) озера Байкал: основные направления и эволюционные параллелизмы // Современные проблемы экологии, природопользования и ресурсосбережения Прибайкалья. Иркутск. 1998. С. 317–318.

Тахтеев В.В. Жизненные формы амфипод озера Байкал // Проблемы систематики, экологии и токсикологии беспозвоночных. Иркутск: ИГУ. 2000а. С. 12 – 21.

Тахтеев В.В. Очерки о бокоплавах озера Байкал (систематика, сравнительная экология, эволюция). Иркутск: ИГУ. 2000б. 355 с.

Тахтеев В.В. Фауна бокоплавов прибрежной зоны Байкала в районе Б. Котов // Методические указания. Иркутск: ИГУ. 1993. 30 с.

Тимофеев М. А., Шатилина Ж. М., Колесниченко А. В. Стрессовые белки в системе адаптации к неблагоприятным факторам среды у пресноводных амфипод // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2003. № 7. С. 149-152.

Тимофеев М.А. Сравнительная оценка отношения байкальских гаммарид и голарктического *Gammarus lacustris* к абиотическим факторам. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Иркутск. 2000. 19 с.

Тимофеев М.А. Экологические и физиологические аспекты адаптации к абиотическим факторам среды эндемичных байкальских и палеарктических

амфипод: Дис. … д–р биол. наук: 03.02.08 / М.А. Тимофеев; ТГУ; Томск. 2010. 384 с.

Тимофеев М.А., Кириченко К.А., Бедулина Д.С. Сравнительная оценка особенностей анаэробного метаболизма у байкальских амфипод *Eulimnogammarus verrucosus* (Gerstf.), *E. cyaneus* (Dyb.) и палеарктического *Gammarus lacustris* Sars // Сибирский экологический журнал. 2006. № 6. С. 733–739.

Тихомиров А.И. Некоторые особенности термического режима Якимварского залива Ладожского озера // Тр. лаб. озеровед. АН СССР. Т. XII. М.-Л.: Изд-во АН СССР. 1961. С. 78-91.

Тихомиров А.И. О термическом баре Ладожского озера // Изв. Всес. геогр. общ-ва АН СССР. 1963. Т. 95. № 2. С. 52-68.

Тихомиров А.И. Основные черты термического режима Ладожского озера // Изв. Всес. геогр. общ. АН СССР. 1964. Т. 96. № 5. С. 32-58.

Трифонова М.С., Курашов Е.А., Барбашова М.А. К вопросу о современном состоянии популяций инвазивных видов амфипод в Щучьем заливе Ладожского озера // Водные ресурсы: изучение и управление (лимнологическая школа-практика). Ма. 2016. С. 57.

Тютеньков С.К., Козляткин А.Л. Акклиматизация кормовых беспозвоночных в Бухтарминском водохранилище // Рыбные ресурсы водоемов Казахстана и их использование. Вып. 8. 1973. С. 90-92.

Финогенова Н.П., Балушкина Е.В., Голубков С.М. Макрозообентос Невской губы в 90-е годы // Тр. ЗИН. 1999. С. 253-268.

Флеров М.А., Ордян Н.Э., Маргулис Б.А. Использование БТШ70 для нормализации последствий неизбегаемого стресса у крыс // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2003. № 8. С. 138-141.

Флоренсов Н.А. История озера // Проблемы Байкала. Новосибирск: Наука, 1978. С. 9–17.

Хлебович В.В., Аладин Н.В. Фактор солености в жизни животных // Вестник РАН. 2010. Т. 80. № 5-6. С. 527-532.

Черепанов В.В., Александров В.Н., Камалтынов Р.М. Зообентос прибрежно-соровых участков Северного Байкала. Новосибирск: Изд-во «Наука». 1977. С. 198-207.

Чернова Н.М., Галушин В.М., Константинов В.М. Экология. М.: Дрофа. 2007. 374 с.

Черняева Ф.А. Морфометрическая характеристика Ладожского озера // Гидрологический режим и водный баланс Ладожского озера. Тр. лаб. озеровед. ЛГУ. Т. XX. Л.: Изд-во ЛГУ. 1966. С. 58-80.

Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Молекулярно–клеточные механизмы инактивации свободных радикалов в биологических системах // Успехи современного естествознания. 2006. № 7 С. 29–36.

Чуйко Г.М. Биомаркеры в гидроэкотоксикологии: принципы, методы и методология, практика использования // Экологический мониторинг. Ч. VIII. Современные проблемы мониторинга пресноводных экосистем: учебное пособие / Под ред. Д.Б. Гелашвили, Г.В. Шургановой. Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет (ННГУ). 2014. С. 309–326.

Щербина Г.Х. Роль вселенцев в структуре донных сообществ верхневолжских водохранилищ // VIII съезд Гидробиологического общества РАН – Т. II. Тез. докл. Калининград, Россия, 16-23 сентября 2001 г. Калининград: КГТУ. 2001. С. 95-96.

Щербина Г.Х., Архипова Н.Р., Баканов А.И. Об изменении биологического разнообразия зообентоса верхневолжских и Горьковского водохранилищ // Проблемы биологического разнообразия водных организмов Поволжья. Тольятти: Ин-т экологии волжск. бассейна РАН. 1997. С. 108-114.

Экосистемные модели. Оценка современного состояния Финского залива. Вып. 5, часть 2. Гидрометеорологические, гидрохимические, гидробиологические, геологические условия и динамика вод Финского залива / Под ред. И.Н. Давидана, О.П. Савчука СПб: Гидрометеоиздат, 1997. 450 с.

Эмануэль Н.М., Лясковская Ю.Н. Торможение процессов окисления жиров. М: Пищепромиздат, 1961. 359 с.

Эмануэль Н.М. Роль свободных радикалов в радиобиологических процессах и некоторые новые возможности в разработке средств против лучевого поражения // Первичные механизмы биологического действия ионизирующих излучений. М.: Изд-во АН СССР. 1963. С. 73-98.

Эмануэль Н.М., Денисов Е.Т., Майзус З.К. Цепные реакции окисления углеводородов в жидкой фазе. М.: Наука, 1965. 270 с.

Энциклопедический словарь медицинских терминов /Под ред. В.И. Покровского// 2–е издание. М.: Медицина. 2007. 714 с.

Янковский О.Ю. Токсичность кислорода и биологические системы (эволюционные, экологические и медико–биологические аспекты). Спб: 2000. 294 с.

Abdel-Lateif H.M., Donker M.H., Van Straalen N.M. Interaction between temperature and cadmium toxicity in the isopod *Porcellio scaber* // Functional Ecology. 1998. Vol. 12. № 4. P. 521-527.

Abele D., Tesch C., Wencke P. How does oxidative stress relate to thermal tolerance in the Antarctic bivalve *Yoldia eightsi*? // Antarctic Science. 2001. Vol. 13. I. 2. P. 111–118.

Aebi H. Catalase in vitro // Methods Enzymol. 1984. Vol. 105. P. 121–126.

Ahmad I., Maria V.L., Oliveira M., Pacheco M., Santos M.A. Oxidative stress and genotoxic effects in gill and kidney of *Anguilla anguilla* L. exposed to chromium with or without pre-exposure to beta-naphthoflavone // Mutat. Res. 2006. Vol. 608. № 1. P. 16-28.

Alberts P.H., Camardese M.B. Effects of acidification on metal accumulation by aquatic plants and invertebrates. 1. Constructed wetlands // Invironmental Toxicology and Chemistry. 2009. Vol. 12. I. 6. P. 959–967.

Almeida J.A., Diniz I.S., Marques S.F.G. The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination // Environment International. 2002. Vol. 27. P. 673–679.

Angilletta Jr M. J. Looking for answers to questions about heat stress: researchers are getting warmer // Functional Ecology. 2009. Vol. 23. № 2. P. 231-232.

Arad Z., Mizrahi T., Goldenberg S., Heller J. Natural annual cycle of heat shock protein expression in land snails: desert versus Mediterranean species of Sphincterochila // Journal of Experimental Biology. 2010. Vol. 213. № 20. P. 3487-3495.

Armbruster B.N., Banik S. S., Guo C., Smith A. C., Counter C. M. N-terminal domains of the human telomerase catalytic subunit required for enzyme activity in vivo // Molecular and cellular biology. 2001. Vol. 21. № 22. P. 7775-7786.

Armbruster G.F. J. Temperature–based variation of rRNA secondary structure models: a case study in the insect Drosophila simulans, the land snail *Isabellaria adriani*, and the crustacean *Daphnia pulex* // Canadian Journal of Zoology–Revue Canadienne de Zoologie. 2001. V. 79. I. 2. P. 334–345.

Axenov-Gribanov D., Bedulina D., Shatilina Z., Jakob L., Vereshchagina K., Lubyaga Y., ... & Sartoris F.J. Thermal preference ranges correlate with stable signals of universal stress markers in Lake Baikal endemic and Holarctic amphipods // PloS one. 2016. Vol. 11. № 10. P. e0164226.

Barnard J.L., Barnard C.M. Fresh Water Amphipoda of the World. Mt. Vernon, Va.: Hayeield Associates. 1983. 830 p.

Bedulina D.S., Evgen'Ev M.B., Timofeyev M.A., Protopopova M.V., Garbuz D.G., Pavlichenko V.V., Sokolova I.M. Expression patterns and organization of the hsp70 genes correlate with thermotolerance in two congener endemic amphipod species (*Eulimnogammarus cyaneus* and *E. verrucosus*) from Lake Baikal // Molecular ecology. 2013. Vol. 22. № 5. P. 1416-1430.

Begon M., Mortimer M., Thompson D.J. Population ecology: a unified study of animals and plants. John Wiley & Sons. 2009. 245 p.

Berezina N.A., Panov V.E. Establishment of new gammarid species in the eastern Gulf of Finland (Baltic Sea) and their effects on littoral communities // Proc. Estonian Acad. Sci. Biol. Ecol. 2003. Vol. 52. № 3. P. 284-304.

Berezina N.A. Invasions of alien amphipods (Amphipoda: Gammaridea) in aquatic ecosystems of North-Western Russia: pathways and consequences // Hydrobiologia. 2007. T. 590. № 1. C. 15-29.

Berezina N.A., Strelnikova A.P. The role of the introduced amphipod *Gmelinoides fasciatus* and native amphipods as fish food in two large-scale north-western Russian inland water bodies: Lake Ladoga and Rybinsk Reservoir // Journal of Applied Ichthyology. 2010. T. 26. № s2. C. 89-95.

Borvinskaya E.V., Nemova N. N., Smirnov L. P. Glutathione S-transferase in northern freshwater fish: the effect of water mineralization // Doklady Biological Sciences. SP MAIK Nauka / Interperiodica, 2011. Vol. 436. № 1. P. 42-44.

Bradbury D.A., Simmons T.D., Slater K.J., Crouch S.P.M. Measurement of the ADP: ATP ratio in human leukaemic cell lines can be used as an indicator of cell viability, necrosis and apoptosis // Journal of Immunological Methods. 2000. Vol. 240. I. 1–2. P. 79 – 92.

Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. № 10. P. 491 - 497.

Brand I.A., Kleineke J. Intracellular zinc movement and its effect on the carbohydrate metabolism of isolated rat hepatocytes // Journal of Biological Chemistry. 1996. Vol. 271. P. 1941–1949.

Brennecke T., Gellner K., Bosch T. C.G. The lack of a stress response in *Hydra oligactis* is due to reduced hsp70 mRNA stability // The FEBS Journal. 1998. Vol. 255. № 3. P. 703-709.

Bunn S.E., Davies P.M. Community structure of the macroinvertebrate fauna and water quality of a saline river system in south-western Australia // Hydrobiologia. 1992. Vol. 248. № 2. P. 143-160.

Camus L., Davies P.E., Spicer J.I. Temperature-dependent physiological response of *Carcinus maenas* exposed to copper // Marine Environmental Research. 2004. Vol. 58. I. 2-5. P. 781-785.

Cazenave J., Bistoni M.A., Pesce S.F., Wunderlin D.A. Differential detoxification and antioxidant response in diverse organs of *Corydoras paleatus* experimentally exposed to microcystin-RR // Aquat. Toxicol. 2006. Vol. 76. P. 1–12.

Charmantier G.U.Y. Ontogeny of osmoregulation in crustaceans: a review // Invertebrate reproduction & development. 1998. Vol. 33. № 2-3. P. 177-190.

Chiang H.L., Terlecky S.R., Plant C.P. A role for a 70–kilodalton heat shock protein in lysosomal degradation of intracellular proteins // Science. 1989. Vol. 246. I. 4928. P. 382 – 385.

Circu M.L., Aw T.Y. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis // Free Radical Biology and Medicine. 2010. T. 48. № 6. C. 749-762.

Csardi G., Nepusz T. The igraph software package for complex network research // InterJournal, Complex Systems. 2006. Vol. 1695. № 5. P. 1-9.

Daunys D., Zettler M.L. Invasion of the North Amrican Amphipod (*Gammarus tigrinus* Sexton, 1939) into the Cronian Lagoon, South-Eastern Baltic Sea //Acta Zoologica Lituanica. 2006. T. 16. № 1. C. 20-26.

De Wachter B., Sartoris F.J., Pörtner H.O. The anaerobic endproduct lactate has a behavioural and metabolic signalling function in the shore crab //Journal of Experimental Biology. 1997. Vol. 200. № 6. P. 1015-1024.

Del Rio L.A., Sandalino L.M., Palma J.M. A new cellular function for peroxisomes related to oxygen free radicals? // Experientia (Basel). 1990. Vol. 46. P. 989-992.

Deutsch C., Ferrel A., Seibel B., Pörtner H. O., Huey R. B. Climate change tightens a metabolic constraint on marine habitats // Science. 2015. Vol. 348. № 6239. P. 1132-1135.

Dhaunsi G.S., Singh I., Hanevold C.D. Peroxisomal participation in the cellular response to the oxidative stress of endotoxin // Mol. Cell. Biochem. 1993. Vol. 126. P. 25-35.

Dix D. J. Hsp-70 expression and function during game-togenesis // Cell Stress and Chaperones. 1997. Vol. 2. P. 73-77.

Domingues I., Agra A.R., Monaghan K., Soares A. M., Nogueira A.J. Cholinesterase and glutathione-S-transferase activities in freshwater invertebrates as biomarkers to assess pesticide contamination // Environmental Toxicology and Chemistry. 2010. T. 29. № 1. C. 5-18.

Doyotte A., Cossu C., Jaquin M.C., Babut M., Vasseur P. Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and the digestive gland of the freshwater bivalve *Unio tumidus* // Aquatic toxicology. 1997. Vol. 39. № 2. P. 93-110.

Drotar A., Phelps P., Fall R. Evidence for glutathione peroxidase activities in cultured plant cells // Plant Sci. 1985. Vol. 42. P. 35–40.

Dutra B. K., Castiglioni D.S., Santos R.B. Seasonal variations of the energy metabolism of two sympatric species of Hyalella (Crustacea, Amphipoda, Dogielinotidae) in the southern Brazilian highlands // Comparative Biochemistry and Physiology A-Molecular & Integrative Physiology. 2007 Vol. 148. I. 1. P. 239-247.

Elliot W.R., Mitchell W. Temperate preference responses of some aquatic, cave-adapted Crustaceans from Central Texas and Northeastern Mexico // Int. J. Speliol. 1973. Vol. 5. № 2. P. 123-132.

Evgen’ev M.B., Garbuz D.G., Shilova V.Y., Zatsepina O.G. Molecular mechanisms underlying thermal adaptation of xeric animals // Journal of biosciences. 2007. Vol. 32. № 3. P. 489–499.

Farnsworth P., Singh K. Structure function relationship among α-crystallin related small heat shock proteins // Experimental eye research. 2004. Vol. 79. № 6. P. 787-794.

Feder M. E., Hofmann G. E. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology // Annual Review of Physiology. 1999. Vol. 61. P. 243-282.

Feder M.E., Krebs R.A. Ecological and evolutionary physiology of heat shock proteins and the stress response in Drosophila: Complementary insights from genetic engineering and natural variation // Environmental stress, adaptation and evolution. 1997. P. 155–174.

Feder M.E., Parsell D. A., Lindquist S. L. The stress response and stress proteins // Cell Biology of Trauma. 1995. P. 177-191.

Frederich M., Pörtner H.O. Oxygen limitation of thermal tolerance defined by cardiac and ventilatory performance in spider crab, *Maja squinado* // Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp Physiol. 2000. Vol. 279. P. 1531–1538.

Freire C.A., Onken H., McNamara J.C. A structure–function analysis of ion transport in crustacean gills and excretory organs // Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. 2008. Vol. 151. № 3. P. 272-304.

Gabriel J.E., Ferro J.A., Stefani R.M. P. Effect of acute heat stress on heat shock protein 70 messenger RNA and on heat shock protein expression in the liver of broilers // British Poultry Science. 1996. Vol. 37. I. 2. P. 443–449.

Gething M. J., Sambrook J. Protein folding in the cell // Nature. 1992. Vol. 355. № 6355. P. 33-45.

Gostyukhina O.L., Andreenko T.I. Low molecular weight components of antioxidative defense system in the Black Sea mollusk *Anadara Kagoshimensis* Brugùiere // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. 2015. Vol. 51. № 4. P. 271-278.

Goto M., Holgersson J., Kumagai–Braesch M., Korsgren O. The ADP/ATP Ratio: A Novel Predictive Assay for Quality Assessment of Isolated Pancreatic Islets // American Journal of Transplantation. 2006. Vol. 6. I. 10. P. 2483–2487.

Greenaway P., Morris S., Sanders N. Blood gas transport and oxygen consumption in a supralittoral crab, *Leptograpsus variegatus* (Crustacea: Brachyura) // Aust. J. mar. freshwater Res. 1992. Vol. 43. P. 1573–1584.

Grieshaber M. Aphotometric estimation of phosphor-l-arginine, arginine and octopine using homogeneous octopine dehydrogenase isozyme 2 from the squid,

Loligo vulgaris Lam/ M. Grieshaber, E. Kronig, R. Koormann // Hoppe-Seyler's Zeitung fur Physiologische Chemie. - 1978. – V. 359. – P. 133–136.

Hahn G.M., Li G.C. Thermotolerance, thermoresistance, and thermosensitization // Stress Proteins in Biology and Medicine. 1990. P. 79–100.

Hall L.W., Cincotta D.A., Stauffer J.R. Temperature preference of the crayfish *Orconectes obscurus* // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1978. V. 7. I. 3. P. 379-383.

Hart B.T., Bailey P., Edwards R., Hortle K., James K., McMahon A., Swadling K. A review of the salt sensitivity of the Australian freshwater biota // Hydrobiologia. 1991. Vol. 210. № 1-2. P. 105-144.

Hartl F.U. Molecular chaperones in cellular protein folding // Nature. 1996. Vol. 381. № 6583. P. 571-580.

Hayes J.D., Flanagan J. U., Jowsey I. R. Glutathione transferases //Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2005. Vol. 45. P. 51-88.

Hendrick J.P., Hartl F.U. Molecular chaperone functions of heat–shock proteins // Annual review of biochemistry. 1993. Vol. 62. № 1. P. 349–384.

Henry K.S., Danielopol D.L. Oxygen dependent habitat selection in surface and hyporheic environments by *Gammarus roeseli* Gervais (Crustacea, Amphipoda): experimental evidence // Hydrobiologia. 1998. Vol. 390. I. 1-3. P. 51-60.

Hervant F., Mathieu J., Barré H. Comparative study on the metabolic responses of subterranean and surface-dwelling amphipods to long-term starvation and subsequent refeeding // Journal of Experimental Biology. 1999. Vol. 202. № 24. P. 3587-3595.

Hoffmann E. K., Dunham P. B. Membrane mechanisms and intracellular signalling in cell volume regulation // International review of cytology. Academic Press, 1995. Vol. 161. P. 173-262.

Hofmann G.E., Buckley B.A., Airaksinen S. Heat–shock protein expression is absent in the antarctic fish *Trematomus bernacchii* (family Nototheniidae) // The J. of experimental Biol. 2000. Vol. 203. P. 2331–2339.

Hommel G. A stagewise rejective multiple test procedure based on a modified Bonferroni test // Biometrika. 1988. Vol. 75. № 2. P. 383-386.

Hüning A.K., Melzner F., Thomsen J., Gutowska M.A., Krämer L., Frickenhaus S., ... & Lucassen M. Impacts of seawater acidification on mantle gene expression patterns of the Baltic Sea blue mussel: implications for shell formation and energy metabolism // Marine Biology. 2013. Vol. 160. № 8. P. 1845-1861.

Hynes H.B. The reproductive cycle of some British freshwater Gammaridae // J. Anim. Ecol. N. 1955. Vol. 24. P. 352-387.

Ivanina A.V., Sokolov E.P., Sokolova I.M. Effects of cadmium on anaerobic energy metabolism and mRNA expression during air exposure and recovery of an intertidal mollusk *Crassostrea virginica* // Aquatic Toxicology. 2010. Vol. 99. P. 330–342.

Jakob L., Axenov–Gribanov D., Luckenbach T., Protopopova M., Gurkov A., Bedulina D., Pavlichenko V., Shahtanova N., Timofeyev M., Lucassen M., Pörtner H.O., Sartoris F.J. Lake Baikal's endemic amphipods fauna threatened by Climate Change, Pollutants and Invaders? // The international symposium 17th Pollutant responses in marine organisms (PRIMO) – Faro, Portugal. 5–8 May, 2013. P. 12–15.

Kalacheva G.S., Gubanov V.G., Gribovskaya I.V., Gladchenko I.A., Zinenko G.K., Konstantinov A.S., Pushkar V.Y., Aver'yanova O.V. Effects of fluctuations of abiotic factors on the metabolism of some hydrobionts //Biology Bulletin of the Russian Academy of Sciences. 2003. Vol. 30. № 6. P. 610-616.

Kangur K., Kumari M., Haldna M. Consequences of introducing the invasive amphipod *Gmelinoides fasciatus* into large shallow Lake Peipsi: present distribution and possible effects on fish food // Journal of Applied Ichthyology. 2010. T. 26. № s2. C. 81-88.

Karaman G.S. New genus of family Gammaridae from Baikal Lake, Abludogammarus, n.gen. with reference to genus Ommatogammarus Stebb. (Contribution to the knowledge of the Amphipoda 108)// Glasnik of the section of

Natural Sciences, the Montenegrin Academy of Sciences and Arts. 1980. P. 149-169.

Karaman G.S., Pinkster S. Freshwater Gammarus species from Europe, North Africa and adjacent regions of Asia (Crustacea-Amphipoda). Part I. *Gammarus pulex*-group and related species // Bijdr. Dierk. 1977. Vol. 47. I. 1. P. 1-97.

Kefford B.J., Papas P.J., Nugegoda D. Relative salinity tolerance of macroinvertebrates from the Barwon River, Victoria, Australia // Marine and Freshwater Research. 2003. Vol. 54. № 6. P. 755-765.

Killen S.S., Atkinson D., Glazier D.S. The intraspecific scaling of metabolic rate with body mass in fishes depends on lifestyle and temperature // Ecology letters. 2010. T. 13. № 2. C. 184-193.

Kinne O. The effect of temperature and salinity on marine and brakish water animals. II. Salinity and temperature combinations // Oceanogr. Mar. Biol. 1964. № 2. P. 281-339.

Kir M., Kumlu M., Eroldoan O.T. Effects of temperature on acute toxicity of ammonia to *Penaeus semisulcatus* juveniles // Aquaculture. 2004. Vol. 241. I. 1-4. P. 479-489.

Kozhova O.M., Izmesteva L.R. Lake Baikal: Evolution and Biodiversity // The Netherlands: Backhuys Publishers. Leiden. 1998. 447 p.

Kregel K. C. Invited review: heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance // Journal of applied physiology. 2002. Vol. 92. № 5. P. 2177-2186.

Kurashov E.A., Barkov D.V., Anisimov A.A. Role of the Baikalian invader *Gmelinoides fasciatus* in littoral biocenoses of Valaam Island (Lake Ladoga) // Biology of Inland Waters. 2006. T. 1. C. 74-84.

Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature.1970. Vol. 227. № 5259. P. 680.

Landry J., Chretien P., Lambert H. Heat shock resistance conferred by expression of the human HSP27 gene in rodent cells // The Journal of Cell Biology. 1989. Vol. 109. P. 7-15.

Lannig G., Flores J.F., Sokolova I.M. Temperature–dependent stress response in oysters, *Crassostrea virginica*: Pollution reduces temperature tolerance in oysters // Aquatic Toxicology. 2006. Vol. 79. I. 3. P. 278–287.

Larade K., Storey K.B. A profile of metabolic responses to anoxia in marine invertebrates // Sensing, Signaling and Cell, Adaptation. 2002. P. 27–46.

Laszlo A. Initial characterization of heat-induced excess nuclear proteins in HeLa cells / A. Laszlo, W. Wright, J. L. Roti Roti // Journal of Cellular Physiology. 1992. Vol. 151. I. 3. P. 519 - 532.

Lee K.W., Raisuddin S., Rhee J.S., Hwang D.S., Yu I.T., Lee Y.M., Lee J.S. Expression of glutathione S-transferase (GST) genes in the marine copepod Tigriopus japonicus exposed to trace metals // Aquatic Toxicology. 2008. Т. 89. № 3. С. 158-166.

Lindström M. Factors affecting the horizontal migration of the amphipod *Pontoporeia affinis* Lindstrom. I. Pacording method and response to water currents // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 1991. Vol. 150. I. 2. P. 149-162.

Lundberg C., Lönnroth M., Numers M., Bonsdorff E. A multivariate assessment of coastal eutrophication. Examples from the Gulf of Finland, northern Baltic Sea // Marine Pollution Bulletin. 2005. Vol. 50. I. 11. P. 1185–1196.

Lushchak V. I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals // Aquatic toxicology. 2011. Vol. 101. № 1. P. 13-30.

Lushchak V.I., Bagnyukova T.V., Lushchak O.V. Hypoxia and recovery perturb free radical processes and antioxidant potential in common carp (*Cyprinus carpio*) tissues // The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. 2005. Vol. 37. P. 1319–1330.

Lushchak V.I., Lushchak L.P., Mota A.A. Oxidative stress and antioxidant defenses in goldfish Carassius auratus during anoxia and reoxygenation // Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol. 2001. Vol. 280. P. 100–107.

Mantel L.H., Farmer L.L. Osmotic and ionic regulation // Internal anatomy and physiological regulation. 1983. Vol. 5. P. 53-161.

Martem'yanov V.I. The dynamics of the sodium, potassium, calcium, magnesium contents in the fresh water mollusc zebra mussel *Dreissenia polymorpha* during stress // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. 2000. Vol. 36. № 1. P. 41-46.

Mathews C.K., Van Holde K.E., Ahern K.G. Biochemistry (3rd. ed.) //Addison Wesley Longman, San Frencisco. 2000. 1186 p.

Mats V.D. The structure and development of the Baikal rift depression // Earth Sci. Rev. 1993. Vol. 34. P. 81-118.

Mooij W. M., Trolle D., Jeppesen E., Arhonditsis G., Belolipetsky P.V., Chitamwebwa D. B., ... & Elliott J.A. Challenges and opportunities for integrating lake ecosystem modelling approaches //Aquatic Ecology. 2010. Vol. 44. № 3. P. 633-667.

Morris S., Van Aardt W.J., Ahern M.D. The effect of lead on the metabolic and energetic status of the Yabby, *Cherax destructor*, during environmental hypoxia // Aquatic Toxicology. 2005. Vol. 75. P. 16–31.

Murzina S.A., Nemova N.N., Nefedova Z.A., Falk-Petersen S. Effects of ecological conditions on lipid composition of the liver and muscles in the daubed shanny *Leptoclinus maculatus* // Russian Journal of Ecology. 2010. Vol. 41. № 1. P. 51–54.

Neuparth T., Costa F.O., Costa M.H. Effects of temperature and salinity on life history of the marine amphipod *Gammarus locusta*. Implications for ecotoxicological testing // Ecotoxicology. 2002. Vol. 11. № 1. P. 61–73.

Ökland K. A. On the distribution and ecology of *Gammarus lacustris* GO Sars in Norway: with notes on its morphology and biology // Nytt Mag. Zool. 1969. Vol. 17. I. 2. P. 111-152.

Osterauer R., Köhler H.R. Temperature-dependent effects of the pesticides thiacloprid and diazinon on the embryonic development of zebrafish (*Danio rerio*) // Aquatic Toxicology. 2008. Vol. 86. № 4. P. 485-494.

Ozturk O., Gumuslu S. Age-related changes of antioxidant enzyme activities, glutathione status and lipid peroxidation in rat erythrocytes after heat stress // Life Sci. 2004. Vol. 75. I. 13. P. 1551-1565.

Padrós J., Pelletier E., Ribeiro C.O. Metabolic interactions between low doses of benzo[a]pyrene and tributyltin in arctic charr (*Salvelinus alpinus*): a long-term in vivo study // Toxicology and Applied Pharmacology. 2003. Vol. 192. P. 45–55.

Panov V.E. Establishment of the Baikalian endemic amphipod *Gmelinoides fasciatus* Stebb. in Lake Ladoga // The First International Lake Ladoga Symposium. Springer, Dordrecht, 1996. C. 187-192.

Panov V.E., McQueen D. J. Effects of temperature on individual growth rate and body size of a freshwater amphipod //Canadian journal of zoology. 1998. Vol. 76. № 6. P. 1107-1116.

Panov V.E., Krylov P.I., Telesh I.V. The St. Petersburg harbour profile // Eds. Gollasch S., Leppakoski E. Initial risk assessment of alien species in Nordic coastal waters. № 8. Copenhagen: Nord. 1999. P. 225-244.

Pinto E., Sigaud–Kutner T.C.S., Leitao M.A.S. Heavy metal–induced oxidative stress in algae // Journal of Phycology. 2003. Vol. 39. I. 6. P. 1008–1018.

Pohlert T. The Pairwise Multiple Comparison of Mean Ranks Package (PMCMR). R package version 1.0. h ttp. CRAN. R-project. org/package= PMCMR. – 2014.

Polle A. Dissecting the superoxide dismutase-ascorbate-glutathione-pathway in chloroplasts by metabolic modeling. Computer simulations as a step towards flux analysis // Plant Physiology. 2001. Vol. 126. № 1. P. 445-462.

Pörtner H. O. Integrating climate-related stressor effects on marine organisms: unifying principles linking molecule to ecosystem-level changes // Marine Ecology Progress Series. 2012. Vol. 470. P. 273-290.

Pörtner H.O., Gutowska M., Ishimatsu A., Lucassen M., Melzner F., Seibel B. Effects of ocean acidification on nektonic organisms. Oxford University Press, Oxford, UK, 2011. P. 154-175.

Pörtner H.O., Knust R. Climate change affects marine fishes through the oxygen limitation of thermal tolerance // Science. 2007. Vol. 315. P. 95-97.

R Core Team R: A Language and Environment for Statistical Computing / R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria, 2015. URL: http://www.r-project.org/.

Ritossa F. A new puffing pattern induced by heat shock and DNP in Drosophila // Experientia. 1962. Vol. 18. P. 571–582.

Rosas C., Martinez E., Gaxiola G., Brito R., Sanchez A., Soto L.A. The effect of dissolved oxygen and salinity on oxygen consumption, ammonia excretion and osmotic pressure of *Penaeus setiferus* (Linnaeus) juveniles // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 1999. Vol. 234. № 1. P. 41-57.

Rozhkova E. Exogenous mammalian extracellular HSP70 reduces endotoxin manifestations at the cellular and organism levels // Annals of the New York Academy of Sciences. 2010. Vol. 1197. № 1. P. 94–107.

Sanders B.M., Hope C., Pascoe V.M. Characterization of stress protein response in two species of Collisella limpets with different temperature tolerances // Physiol. Zool. 1991. Vol. 64. P. 1471–1489.

Santoro M.G. Heat shock factors and the control of the stress response // Biochemical pharmacology. 2000. Vol. 59. № 1. P. 55-63.

Schlenk D., Rice C. D. Effect of zinc and cadmium treatment on hydrogen peroxide-induced mortality and expression of glutathione and metallothionein in a teleost hepatoma cell line // Aquatic Toxicology. 1998. Vol. 43. № 2-3. P. 121-129.

Schletterer M., Kuzovlev V.V. Documentation of the presence of *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899) and the native benthic fauna in the Volga River at Tver (Tver Region, Russia) // Aquatic Insects. 2012. T. 34. № sup1. C. 139-155.

Selvakumar S., Geraldine P. Thermal modulation of pyruvate metabolism in the freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii*: the role of lactate dehydrogenase // Fish physiology and biochemistry. 2003. Vol. 29. № 2. P. 149-157.

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

Schneider C.A., Rasband W.S., Eliceiri K.W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. Nat Methods. 2012. № 9. P. 671–675.

Shrode J. B., Zerba K. E., Stephens Jr J. S. Ecological significance of temperature tolerance and preference of some inshore *California fishes* //Transactions of the American Fisheries Society. 1982. Vol. 111. № 1. P. 45-51.

Siemien M. J., Stauffer Jr J. R. Temperature preference and tolerance of the spotted tilapia and Rio Grande cichlid // Archiv fur Hydrobiologie. Stuttgart. 1989. Vol. 115. № 2. P. 287-303.

Sies H. Oxidative stress - from basic research to clinical application // Am. J. Med. 1991. Vol. 91. I. 3 C. P. S 31-S 38.

Sokolova I. M., Frederich M., Bagwe R., Lannig G., Sukhotin A. A. Energy homeostasis as an integrative tool for assessing limits of environmental stress tolerance in aquatic invertebrates // Marine environmental research. 2012. Vol. 79. P. 1-15.

Sokolova I.M. Cadmium effects on mitochondrial function are enhanced by elevated temperatures in a marine poikilotherm *Crassostrea virginica* Gmelin (Bivalvia: Ostreidae) // J. Exp. Biol. 2004. Vol. 207. P. 2639–2648.

Sokolova I.M., Pörtner H.O. Metabolic plasticity and critical temperatures for aerobic scope in a eurythermal marine invertebrate (*Littorina saxatilis*, Gastropoda: Littorinidae) from different latitudes // The Journal of Experimental Biology. 2003. Vol. 206. P.195–207.

Soldatov A.A., Andreenko T.I., Sysoeva I.V., Sysoev A.A. Tissue specificity of metabolism in the bivalve mollusc Anadara inaequivalvis Br. under conditions of experimental anoxia // Journal of evolutionary biochemistry and physiology. 2009. Т. 45. № 3. С. 349-355.

Somero G.N. Thermal physiology and vertical zonation of intertidal animals: Optima, limits, and costs of living // Integrative and Comparative Biology. 2002. Vol. 4. I. 4. P.780–789.

Spees J. L., Chang S. A., Mykles D. L., Snyder M. J., Chang E. S. Molt cycle–dependent molecular chaperone and polyubiquitin gene expression in lobster // Cell Stress & Chaperones. 2003. Vol. 8. I. 3. P. 258 – 264.

Stecyk J.A.W., Bock C., Overgaard J., Wang T., Farrell A.P., Pörtner H.O. Correlation of cardiac performance with cellular energetic components in the oxygen–deprived turtle heart //Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2009. Vol. 297. P.756–768.

Stillman J., Somero G. Adaptation to temperature stress and aerial exposure in congeneric species of intertidal porcelain crabs (genus Petrolisthes): correlation of physiology, biochemistry and morphology with vertical distribution //Journal of Experimental Biology. 1996. Vol. 199. № 8. P. 1845-1855.

Sures B. Environmental parasitology. Interactions between parasites and pollutants in the aquatic environment // Parasite. 2008. Vol. 15. N 3. P. 434–438.

Takhteev V.V., Levashkevich A.M., Govorukhina E.B. Effect of artificial illumination on the intensity of nocturnal vertical migrations of amphipods in Lake Baikal // Russian Journal of Ecology. 2004. Vol. 35. I. 6. P. 421-423.

Timm V., Timm T. Eesti Teaduste // Akadeemia Toimetised Bioloogia. 1993. Vol. 42. I. 2. P. 144-153.

Timofeyev M.A., Shatilina Z.M., Protopopova M.V., Bedulina D.S., Pavlichenko V.V., Kolesnichenko A.V., Steinberg C.E.W. Thermal stress defense in freshwater amphipods from contrasting habitats with emphasis on small heat shock proteins (sHSPs) // Journal of Thermal Biology. 2009. Vol. 34. P. 281–285.

Tissieres A., Mitchell H. K., Tracy U. M. Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: relation to chromosome puffs //Journal of molecular biology. 1974. Vol. 84. № 3. P. 389-398.

Tomanek L., Helmuth B. Physiological ecology of rocky intertidal organisms: a synergy of concepts // Integrative and Comparative Biology. 2002. Vol. 42. № 4. P. 771-775.

Tomanek L. The importance of physiological limits in determining biogeographical range shifts due to global climate change: the heat-shock response // Physiological and Biochemical Zoology. 2008. T. 81. № 6. C. 709-717.

Tomanek L. Variation in the heat shock response and its implication for predicting the effect of global climate change on species' biogeographical distribution ranges and metabolic costs // Journal of Experimental Biology. 2010. T. 213. № 6. C. 971-979.

Tolomeyev A.P., Zadereev E.S., Degermendzhy A.G. Fine stratified distribution of *Gammarus lacustris* Sars (Crustacea: Amphipoda) in the pelagic zone of the meromictic Lake Shira (Khakassia, Russia) // Doklady Biochemistry and Biophysics. Nauka/Interperiodica. 2006. T. 411. № 1. C. 346-348.

Tsubokura T., Goshima S., Nakao S. Seasonal horizontal and vertical distribution patterns of the supralittoral amphipod *Trinorchestia trinitatis* in relation to environmental variables // Journal of Crustacean Biology. 1997. Vol. 17. № 4. P. 674-686.

Vainio J. K., Väinölä R. Refugial races and postglacial colonization history of the freshwater amphipod *Gammarus lacustris* in Northern Europe // Biological Journal of the Linnean Society. 2003. Vol. 79. № 4. P. 523-542.

Vega R. B., Huss J. M., Kelly D. P. The coactivator PGC-1 cooperates with peroxisome proliferator-activated receptor α in transcriptional control of nuclear genes encoding mitochondrial fatty acid oxidation enzymes //Molecular and cellular biology. 2000. Vol. 20. № 5. P. 1868-1876.

Vereshchagina K.P., Lubyaga Y.A., Shatilina Z.M., Bedulina D.M., Gurkov A.H., Axenov-Gribanov D.V., Sokolova I.M. Salinity modulates thermotolerance, energy metabolism and stress response in amphipods Gammarus lacustris // PeerJ. 2016. Vol. 4. P. e2657.

Vreto M. A. C., Guiller A., Daguzan J. Allozyme variation in some populations of the freshwater snails *Lymnaea peregra*, *L. auricularia* and *L. stagnalis* (Gastropoda: Pulmonata) //Journal of Molluscan Studies. 1994. Vol. 60. № 4. P. 393-403.

Wehner F., Olsen H., Tinel H., Kinne-Saffran E., Kinne R.K. Cell volume regulation: osmolytes, osmolyte transport, and signal transduction // Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology. Springer, Berlin, Heidelberg, 2003. P. 1-80.

Wendel A. Enzymes acting against reactive oxygen // Enzymes – Tools and Targets. Basel: Kar-ger. 1988. P. 161-167.

Whiteley N.M., Robertson R. F., Meagor J., El Haj A.J., Taylor E.W. Protein synthesis and specific dynamic action in crustaceans: effects of temperature // Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. 2001. Vol. 128. № 3. P. 593-604.

Wickham H. ggplot2: elegant graphics for data analysis. Springer Science & Business Media, 2009.

Wilson D.L. The analysis of survival (mortality) data: fitting Gompertz, Weibull, and logistic functions // Mechanisms of ageing and development. 1994. Vol. 74. № 1-2. P. 15-33.

Yemelyanova A. Y., Temerova T. A., Degermendzhy A. G. Distribution of *Gammarus lacustris* Sars (Amphipoda, Gammaridae) in Lake Shira (Khakasia, Siberia) and laboratory study of its growth characteristics // Aquatic Ecology. 2002. Vol. 36. № 2. P. 245-256.

Young L.J., Flanagan-Cato L.M. Editorial comment: oxytocin, vasopressin and social behavior // Hormones and behavior. 2012. Vol. 61. № 3. P. 227-229.

Zhu Y., Pe'ery T., Peng J. Transcriptional elongation factor P-TEFB is required for HIV-1 Tat transactivation in vitro // Genes Dev. 1997. Vol. 11. P. 2622-2632.