

ORIGINAL ARTICLE

**COMPARISON OF STRESS PROTEINS PARTICIPATION IN
ADAPTATION MECHANISMS OF BAIKALIAN AND PALEARCTIC
AMPHIPOD (AMPHIPODA; CRUSTACEA) SPECIES**

**Timofeyev M.A.^{1,2}, Shatilina Zh.M.², Bedulina D.S.¹, Protopopova M.V.¹,
Grabelnych O.I.³, Pobezhimova T.P.³, Kolesnichenko A.V.^{1,3}**

¹ *Baikalian Research Center, 664003 Irkutsk, Karl Marks st., 5-10, Russia;*

² *Irkutsk State University, 664003 Irkutsk, Karl Marks st., 1, Russia;*

³ *Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, SD RAS, Irkutsk, Russia*

Received 17 January 2006 г.

Abstract - The aim of the present study was a study of the influence different stressful factor on syntheses and activity of the stress proteins (HSP70, sHSP and peroxidase) of freshwater organism. Six freshwater amphipod species were investigated: *Eulimnogammarus cyaneus* (Dyb.), *E verrucosus* (Gerstf.), *E vittatus* (Dyb.) - endemic species from Lake Baikal which were compared with Palearctic species - *Gammarus lacustris* Sars., *G tigrinus* (Sexton), *Chaetogammarus ischnus* (Stebbins). It was shown expression of sHSP by heat and toxic stresses for all amphipods species. Oxidative stress induced HSP70 for Palearctic species *G tigrinus* and *C ischnus* but not for baikalian species. Heat stress did not caused the increase of HSP70 level for Baikalian species of amphipods. The activity of the peroxidase was decrease by heat and toxic stresses. Oxidative stress caused the increase of peroxidase activity for Palearctic species, and the decrease for Baikalian once.

Key words: Baikal / heat shock proteins / peroxidase / amphipods / stress-adaptation

ORIGINAL ARTICLE

СТРЕССОВЫЕ БЕЛКИ В МЕХАНИЗМАХ СТРЕСС-АДАПТАЦИИ БАЙКАЛЬСКИХ АМФИПОД (Amphipoda, Crustacea), СОПОСТАВЛЕНИЕ С ПАЛЕАРКТИЧЕСКИМИ ВИДАМИ

Тимофеев М.А.^{1,2}, Шатилина Ж.М.², Бедулина Д.С.¹, Протопопова М.В.¹,
Грабельных О.И.³, Побежимова Т.П.³, Колесниченко А.В.^{1,3}

¹ Байкальский исследовательский центр. 664003 Иркутск, ул. К. Маркса, 5-10, Россия;

² Иркутский государственный университет. 664003 Иркутск, ул. К. Маркса, 2, Россия;

³ Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, 664033 Иркутск, а/я1243, ул. Лермонтова, 132, Россия

Поступила в редакцию 17 января 2006 г.

В работе представлены материалы оценки влияния различных стрессовых факторов на характер синтеза и активность ряда стрессовых белков у байкальских и палеарктических видов амфипод (Amphipoda, Crustacea). Использовали следующие виды: три эндемичных вида из озера Байкал - *Eulimnogammarus cyaneus* (Dyb.), *E. verrucosus* (Gerstf.), *E. vittatus* (Dyb.), которые сравнивались с палеарктическими видами *Gammarus lacustris* Sars., *G. tigrinus* (Sexton), *Chaetogammarus ischnus* (Stebbins). Исследовали влияние температурного, окислительного и токсического факторов на характер синтеза БТШ70 и нмБТШ, а так же на уровень активности пероксидазы. Показано, что нмБТШ принимают участие в системе защиты при температурном и токсическом стрессах у всех изученных видов амфипод. БТШ70 участвует в механизмах защиты от окислительного стресса у палеарктических видов амфипод *G. tigrinus* и *C. ischnus*. У байкальского *E. cyaneus* не отмечена индукция синтеза БТШ70 при воздействии окислительного стресса, а так же при повышении температуры. Воздействие токсического и температурного стрессов у всех видов амфипод снижало активность пероксидазы. При окислительном стрессе происходила активация пероксидазы у палеарктических видов и снижение активности фермента у байкальских видов.

Key words: Байкал / белки теплового шока / пероксидаза / амфиподы / стресс-адаптация.

Среда обитания большинства живых организмов характеризуется нестабильностью абиотических условий, в результате чего в течение жизни организмы сталкиваются с воздействием стрессов различной природы. В ответ на стрессовое влияние активизируются защитные механизмы, выработанные животными и растениями в процессе эволюции. Непосредственно после стрессового воздействия включаются поведенческие механизмы - реакции избегания, позволяющие покинуть зону негативного влияния (Momot, Gowing, 1972; Brauer et al., 1984; Hough, Naylor, 1992; Lindstrom, 1994). Если для нейтрализации стрессового воздействия поведенческой реакции оказывается недостаточно, подключаются механизмы, действующие на физиологическом, биохимическом и молекулярном уровнях, целью которых является адаптация организма к стрессовым условиям (Хочачка, Сомеро, 1988; Озернюк, 1992; Sanders, 1993; Имашева, 1999; Тимофеев, Кириченко, 2004).

Известно, что одним из базовых механизмов стресс-адаптации на клеточном уровне является синтез стрессовых белков (Tsugawa, 1976;

Озернюк, 1992; Feder, Hofmann, 1999). К стрессовым белкам относят те группы белков, экспрессия и /или активность которых увеличивается в ответ на воздействие различных стрессоров (Савич, 1989; Felton, Summers, 1995; Feder, Hofmann, 1999). Синтез стрессовых белков индуцируется широким кругом стрессовых воздействий, такими как экстремальные температуры, токсический и окислительный стрессы и др. (Gething, Sambrook, 1992; Sanders, 1993; Колесниченко, Войников, 2003). К числу стрессовых белков относят белки теплового шока (БТШ) (Lindquist, Craig, 1988; Gething, Sambrook, 1992; Feder, Hofmann, 1999), низкомолекулярные белки теплового шока (нмБТШ) (Derham, Harding, 1999; Ito et al., 2002; Панасенко и др., 2003), а так же ряд ферментов, включая антиоксидантные ферменты (Савич, 1989; Fridovich, 1998).

В ряду работ по изучению функций и особенностей стрессовых белков особое направление могут занять исследования эндемичных представителей фауны очагов интенсивного видообразования. Известно, что эндемики приспособлены к определенным условиям среды и часто обладают узко

специализированными механизмами адаптации. Одним из наиболее известных участков интенсивного видообразования является озеро Байкал, населенное древнейшей фауной, характеризующейся чрезвычайным биоразнообразием, с высокой степенью эндемизма. Особенностью Байкала является то, что длительный эволюционный период времени условия в озере были близки к современным (низкий уровень органики и низкая минерализация, высокая прозрачность, низкие температуры и высокое насыщение кислородом) (Кожов, 1962; Kozhova, Izmet'eva, 1998). При этом благодаря явлению несмешиваемости байкальского и палеарктического фаунистических комплексов, фауна озера Байкал развивалась изолировано от окружающей фауны Палеарктики (Коряков, 1959; Кожов, 1962; Мазопова, 1990; Kozhova, Izmet'eva, 1998). Таким образом, в Байкале шло длительное эволюционирование видов в уникальных и стабильных условиях среды, что могло привести к развитию у них специфичных механизмов стресс-адаптации и в частности особенностей функционирования стрессовых белков.

Целью проводимой нами с 2002 года работы является изучение влияния абиотических стрессовых факторов на характер синтеза и активность ряда стрессовых белков у пресноводных организмов. В статье представлены обобщенные результаты работы нашей исследовательской группы период 2002-2005 гг.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования выбраны амфиподы (Crustacea, Amphipoda). Представители этой группы ракообразных встречаются почти во всех типах водоемов мира, включая пресноводные водоемы. Особенное разнообразие данная группа получила в оз. Байкал, где представлено более 250 эндемичных видов, населяющих все типы грунтов и все глубины озера (Tachteev, 1997). Большинство из них имеет определенную экологическую специализацию к тем или иным условиям обитания в озере. У ряда видов наблюдаются крайне слабые резистентные способности. В тоже время, отмечены виды по своим адаптационным способностям близкие к видам космополитам, а в некоторых случаях и превышающие их (Тимофеев, 2000). Таким образом, амфиподы характеризуются не только видовым разнообразием, но и большим разнообразием адаптационных способностей у отдельных видов.

В исследовании использовали следующие виды эндемичных амфипод из озера Байкал - *Eulimnogammarus cyaneus* (Dyb.), *E. verrucosus* (Gerstf.), *E. vittatus* (Dyb.), которых сравнивали с палеарктическими видами - *Gammarus lacustris* Sars., *G. tigrinus* (Sexton), *Chaetogammarus ischnus* (Stebbins). Байкальских амфипод отлавливали в прибрежной зоне озера Байкал в районе пос. Листвянка (Южный Байкал), а так же в районе

пос. Большие Коты. *G. lacustris* - в озере, расположенном в черте г. Иркутска, в непосредственной близости к р. Ангара и небольшом озере в районе пос. Большие Коты на расстоянии не более 1 км от побережья оз. Байкал. *G. tigrinus* и *C. ischnus* отлавливали на урете озера Mugulsee (Германия). Выбранные виды являются обитателями верхнего отдела литорали и близки по своим экологическим характеристикам.

Перед экспериментами амфипод содержали в аэрируемых аквариумах при температуре 6-8°C, отдельно по видам. Оценивали влияние температурного, окислительного и токсического факторов. Оценку температурного воздействия проводили в ходе экспонирования амфипод при 18°C, 20°C и 25°C. Токсическое влияние оценивали экспонированием амфипод в растворах хлористого кадмия в концентрациях – 5, 0,5 и 0,05 мг/л. Окислительное воздействие оценивали экспонированием амфипод в растворах лабораторных очищенных гуминсодержащих препаратов. Известно, что при фотолизе, растворенные гуминовые вещества являются продуцентами широкого спектра активных форм кислорода (Cooper, 1989; Pflugmacher et al., 1999, Pflugmacher et al., 2001; Steinberg, 2003). В работе использовали гуминсодержащие препараты “Sanctuary pond” (Canada, Berlington) и “Schwarzer See” (Germany, Berlin), любезно предоставленными Prof. C. Steinberg (HU). После экспериментов у рачков производили отбор образцов для биохимического анализа из недифференцируемых тканей.

Проводили оценку характера синтеза белков теплового шока семейства БТШ70 и нмБТШ, иммунохимически родственных α-кристаллину, а так же уровень активности антиоксидантного фермента – пероксидазы. Для определения характера синтеза стрессовых белков использовали стандартный метод денатурирующего электрофореза с ДДС-Na в 12 % полиакриламидном геле, с последующим Вестерн-блоттингом с антителами к исследуемым белкам. Активность пероксидазы измеряли спектрофотометрически, в соответствии с методикой Drotar et al. (1985), используя в качестве субстрата гваякол при длине волны 436 нм, pH 5.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе проведенных исследований синтез БТШ70 нами обнаружен у всех изучаемых видов амфипод. Причем концентрация данного белка у байкальских видов многократно меньше, чем у палеарктических видов. Для получения эквивалентного количества БТШ70 при Вестерн-блоттинге приходилось увеличивать объемы образцов белка более чем в 5 раз. Однако даже при этом БТШ70 у байкальских видов слабо детектировался (Тимофеев и др., 2002; Тимофеев и др., 2003b).

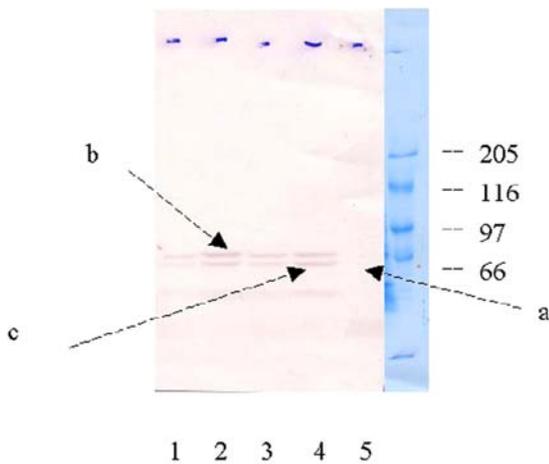


Рис. 1. Вестерн-блоттинг на БТШ70 амфипод до и после индуцированного окислительного стресса.

1 - *G. tigrinus* контроль; 2 - *G. tigrinus* стресс;
3 - *C. ischnus* контроль; 4 - *C. ischnus* стресс;
5 - *E. cyaneus* стресс.

Окислительный стресс вел к индукции синтеза БТШ70 у палеарктических видов, выловленных из европейских водоемов *G. tigrinus* и *C. ischnus*. У байкальского вида *E. cyaneus* после экспозиции в растворах гуминсодержащих

препаратов увеличения синтеза БТШ70 обнаружено не было (рис. 1) (Тимофеев и др., 2002; Timofeyev et al., 2004).

Эксперименты по изучению влияния токсического стресса на характер синтеза нмБТШ показали индукцию синтеза нескольких белков семейства нмБТШ у байкальских *E. verrucosus*, *E. cyaneus* и палеарктического *G. lacustris* (Шатилина, Тимофеев, 2004). Токсический стресс ведет к синтезу нмБТШ с молекулярными массами 15, 28, 52 и 57 кДа. Синтез белка с молекулярной массой 32 кДа отмечен у всех исследованных видов. Интенсивность синтеза данного белка зависит от концентрации растворов токсиканта. Наибольший уровень синтеза белка обнаруживается у особей экспонированных в растворе с самой высокой концентрацией CdCl_2 – 5 мг/л, а наименьший – в растворе с наименьшей концентрацией – 0,05 мг/л (рис. 2) (Шатилина, 2005; Тимофеев и др., 2006).

При оценке температурных воздействий отмечали, что экспонирование амфипод при повышенных температурах вызывало усиление синтеза нмБТШ у изученных байкальских видов (рис. 3), увеличения синтеза БТШ70 при температурном стрессе не происходило (Тимофеев и др., 2005а; Тимофеев и др., 2005с).

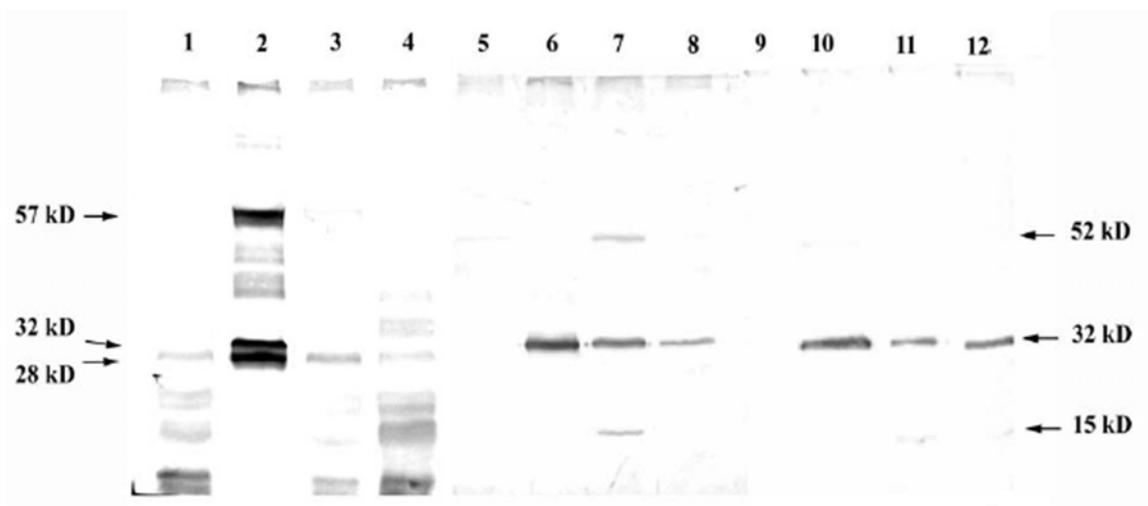


Рис. 2. Вестерн-блоттинг на нмБТШ, иммунохимически родственные α -кристаллину, у амфипод экспонированных в различных концентрациях CdCl_2 в течение 24 часов.

1) *G. lacustris* контроль; 2) *G. lacustris* 5 мг/л; 3) *G. lacustris* 0,5 мг/л; 4) *G. lacustris* 0,05 мг/л; 5) *E. cyaneus* контроль; 6) *E. cyaneus* 5 мг/л; 7) *E. cyaneus* 0,5 мг/л; 8) *E. cyaneus* 0,05 мг/л; 9) *E. verrucosus* контроль; 10) *E. verrucosus* 5 мг/л; 11) *E. verrucosus* 0,5 мг/л; 12) *E. verrucosus* 0,05 мг/л.

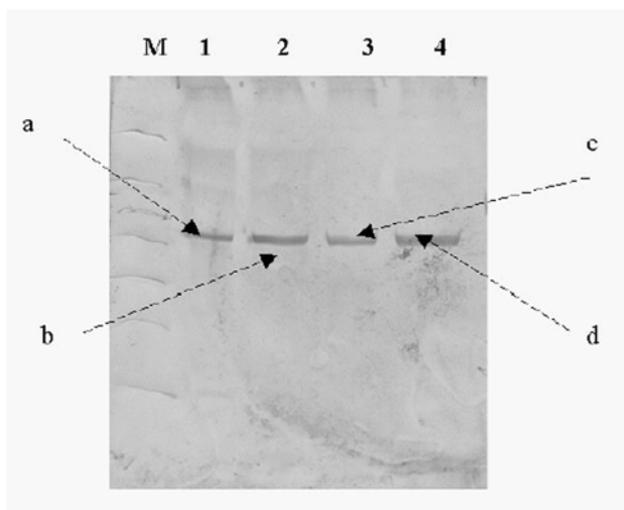


Рис. 3. Вестерн-блоттинг на нмБТШ, иммунохимически родственные α -кристаллину, амфипод видов *E. vittatus* и *E. cyaneus* экспонированных при температуре 20 °C в течение 3 суток

1 - *E. cyaneus* 30 мин., 2 - *E. cyaneus* 3 суток, 3 - *E. vittatus* 30 мин., 4 - *E. vittatus* 3 суток.

В ходе исследования показано, что стрессовые факторы оказывают воздействие на активность пероксидазы у изученных видов амфипод, при этом наблюдаются межвидовые различия (Timofeyev, 2006). При температурах 20 и 25 °C у палеарктического *G. lacustris* не происходит достоверных изменений активности фермента. У тепловыносливого байкальского *E. cyaneus* отмечено снижение активности фермента при температуре 25 °C, и не отмечается при 20 °C. У холодолюбивого *E. verrucosus* при воздействии температур 20 и 25 °C наблюдается снижение активности пероксидазы (рис. 4) (Шатилина, 2005). При воздействии окислительного стресса отмечается многократная активация пероксидазы у представителей палеарктических видов (рисунок 5) (Тимофеев и др., 2002; Тимофеев и др., 2003а; Timofeyev et al., 2004; Timofeyev et al., 2006а; Тимофеев, 2006а), в то время как у байкальских видов происходит ингибирование активности фермента (рис. 6) (Timofeyev et al., 2006b; Тимофеев, 2006b). Токсический стресс ведет к снижению активности фермента у всех изученных видов (Шатилина, 2005; Тимофеев и др., 2005b; Тимофеев и др., 2006).

ОБСУЖДЕНИЕ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенных работ установлено, что у байкальских амфипод синтезируются белки теплового шока семейств БТШ70 и нмБТШ, иммунохимически родственных α -кристаллину. Показано, что нмБТШ принимают участие в системе защиты при температурном и токсическом стрессах у изученных видов амфипод.

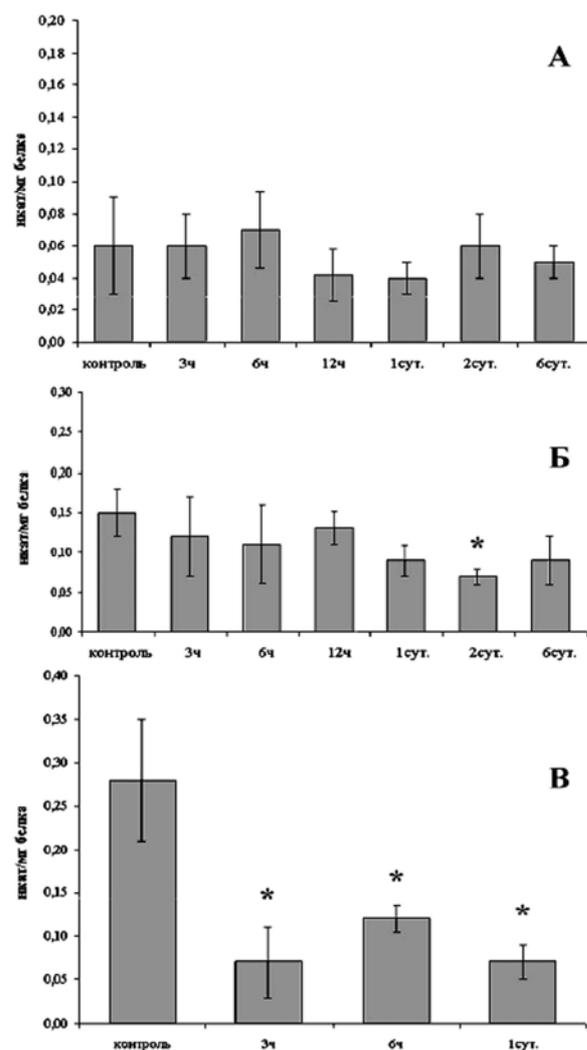


Рис. 4. Активность пероксидазы у амфипод экспонированных при 25 °C.

A - *G. lacustris*, Б - *E. cyaneus*, В - *E. verrucosus*. * - статистически достоверное отклонение от контроля при $P > 0.95$.

У палеарктических видов амфипод *G. tigrinus* и *C. ischnus* БТШ70 несомненно участвует в механизмах защиты от окислительного стресса. Это положение вполне соответствует известным данным об участии белков семейства БТШ70 в механизмах защиты при воздействии различных стрессов (Gething, Sambrook, 1992; Sanders, 1993; Feder et al., 1997; Hartl, 1996; Polla et al., 1996; Кулаева, 1997). БТШ70 относится к семейству шаперонов, основной функцией которого является связывание белков, регулирование их сворачивания, транспорта и восстановления (Sanders, 1993; Наградова, 1996; Feder, Hofmann, 1999). Существует обширный ряд работ, подтверждающих участие белков семейства БТШ70 при адаптации организмов к неблагоприятным условиям (Sanders, 1993; Werner, Nagel, 1997; Feder, Hofmann, 1999).

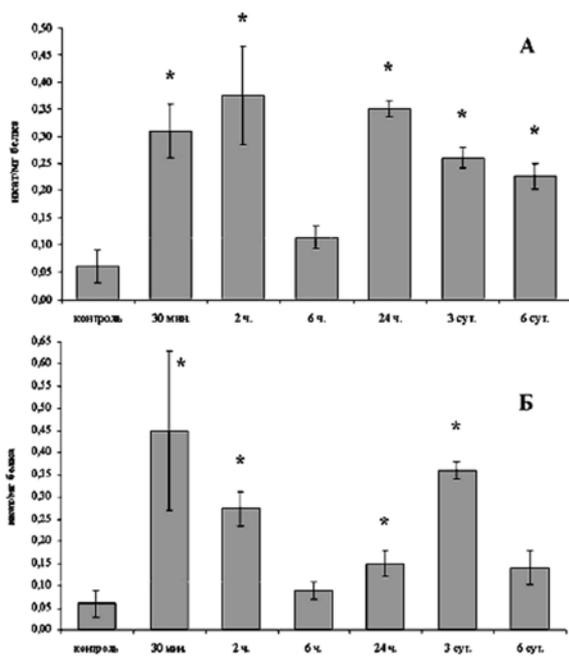


Рис. 5. Активность пероксидазы у амфипод вида *G. lacustris* экспонированных в растворах гуминсодержащего препарата "Schwarzer See" с разными концентрациями.

А – концентрация 30 мг/л.

Б - концентрация 60 мг/л.

* - статистически достоверное отклонение от контроля при $P > 0.95$.

В то же время у байкальских амфипод, вероятно, существует специфика участия БТШ70 в системе стрессовой защиты. Возможно, с этим связана его малая концентрация. У *E. cyaneus* не происходит индукции синтеза БТШ70 при воздействии окислительного стресса. Вероятным объяснением этого факта может являться только то, что БТШ70, являясь основным элементом стрессовых систем большинства организмов, у байкальских эндемичных видов не играет важной роли в механизме стресс-адаптаций. Подобное явление описано для ряда других видов (Bosch et al., 1988; Hofmann et al., 2000). Возможной причиной может быть то, что в системе активации синтеза БТШ70 у исследованных байкальских организмов могут быть температурно-зависимые элементы, работа которых нарушается при повышенных температурах. Так, например, при сравнительном исследовании *Hydra oligactis* и *H. magnipapillata* обнаружено, что при температурном стрессе у *H. oligactis* происходит нарушение синтеза БТШ70, т.к. нарушается стабильность мРНК БТШ70 (Brennecke et al., 1998). В то же время, нельзя исключить и тот факт, что отмеченные изменения в синтезе БТШ70 могут быть связаны с естественной, чрезвычайно низкой концентрацией БТШ70 у байкальских видов.

Следует отметить, что возможность снижения уровня синтеза БТШ70 при изменении условий среды ранее уже указывалась для других видов (Ovelgonne et al., 2000; Sorensen et al., 2001).

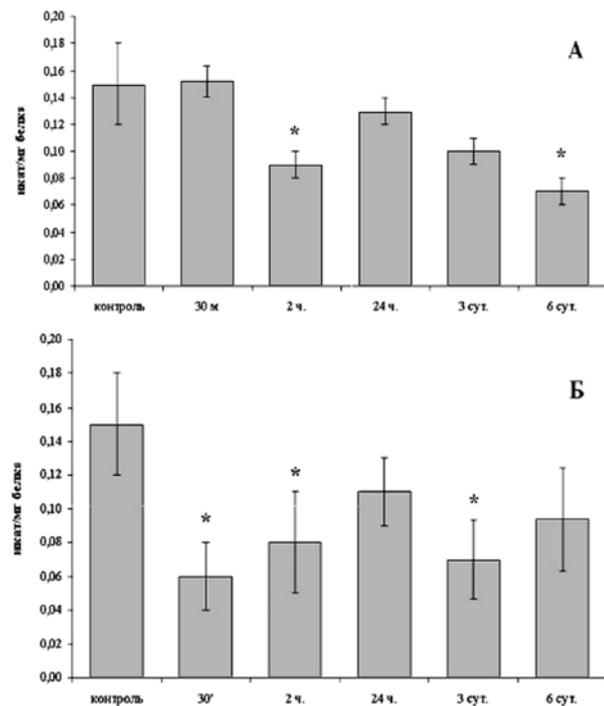


Рис. 6. Активность пероксидазы у амфипод вида *E. cyaneus* экспонированных в растворах гуминсодержащего препарата "Schwarzer See" с разными концентрациями.

А – концентрация 30 мг/л.

Б - концентрация 60 мг/л.

* - статистически достоверное отклонение от контроля при $P > 0.95$.

Пероксидаза является ферментным компонентом антиоксидантной системы организма (АОС), основная функция которой защита клеток от повреждений, вызванных АФК (Зайцев, Закревский, 1998; Geret et al., 2003). Снижение активности фермента при воздействии токсического и температурного стрессов, вероятно, указывает на общее подавление антиоксидантных процессов в организме (Baldrian et al., 1996; Converso et al., 2000; Sandalio et al., 2001). Активация пероксидазы при окислительном стрессе у палеарктических видов свидетельствует о ее несомненном участии в АОС этих видов амфипод (Geret et al., 2003; Memisogullari, 2003). Снижение активности фермента у байкальских видов амфипод позволяет предположить, что у байкальских амфипод существует специфичный механизм антиоксидантной защиты. Вероятно, именно в результате активирования более эффективного механизма элиминации АФК происходит снижение уровня перекиси водорода и, как следствие, понижение активности пероксидазы.

Подобное явление описано для других организмов (Almedia et al., 2000; Howbrook et al., 2001; Anderson, 2002). Таким образом, у исследованных палеарктических и байкальских видов амфипод, вероятно, существуют различия в механизмах защиты от окислительного стресса.

Работа поддержана грантами: РФФИ – 02-04-48677-а, 03-04-06251-мас, 04-04-63098-к, 05-04-97263-р_Байкал, 05-04-97239-р_Байкал, Минобразования – А03-2.12-34, DAAD-Минобразования – А/04/39641, DAAD – А/03/01381, РОСНАУКА -2005-РИ-19.0/002/229.

ЛИТЕРАТУРА

- Зайцев В.Г., Закревский В.И. (1998) Методологические аспекты исследований свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. *Вестник Волгоградской медицинской академии*, Вып. 4, 49-53.
- Имашева А.Г. (1999) Стрессовые условия среды и генетическая изменчивость в популяциях животных. *Генетика*, **35**, № 4, С.421–431.
- Колесниченко А.В., Войников В.К. (2003) Белки низкотемпературного стресса растений. Иркутск: Арт-Пресс, 196.
- Кожов М.М. (1962) Биология озера Байкал. М. Изд-во АН СССР, 315 с.
- Коряков Е.А. (1959) Об одной из причин несмешиваемости байкальской фауны в связи с вопросом её реконструкции. *Биологич. основы рыбного хозяйства*, Томск, 67-80.
- Мазепова Г.Ф. (1990) Остракоды озера Байкал. Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние, 472.
- Озернюк Н.Д. (1992) Механизмы адаптации. М.: Наука, 272.
- Панасенко О.О., Ким М.В., Гусев Н.Б. (2003) Структура и свойства малых белков теплового шока. *Успехи биол. химии*, **43**, 59-98.
- Савич И.М. (1989) Пероксидазы – стрессовые белки растений. *Успехи современной биологии*, **107**, вып. 3, 406 – 417.
- Тимофеев М.А. (2000) Сравнительная оценка отношения байкальских гаммарид и голарктического *Gammarus lacustris* Sars к абиотическим факторам. Дис. ... канд. биол. наук, Иркутск, 140.
- Тимофеев М.А., Пфлюгмахер Ш., Виганд К. (2002) Индукция синтеза стрессовых белков и повышение активности пероксидазы у пресноводных амфипод в растворах гуминовых веществ. Экологические, физиологические и паразитологические исследования пресноводных амфипод. Сборник научн. Трудов, Иркутск, Иркут. Ун-т, 7-15.
- Тимофеев М.А., Шатилина Ж.М., Колесниченко А.В., Побежимова Т.П., Грабельных О.И. (2003 а) Оксидативное влияние растворов гуминовых веществ на европейских и байкальских амфипод; эволюционный взгляд на причины резистентных различий. *Сибирский экологический журнал*, № 5, 569-574.
- Тимофеев М.А., Шатилина Ж.М., Колесниченко А.В., Побежимова Т.П., Грабельных О.И. (2003 б) Стрессовые белки в системе адаптации к неблагоприятным факторам среды у пресноводных амфипод. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*, **7**, 149-152.
- Тимофеев М.А. (2003) О возможности применения результатов биохимических исследований в изучении механизмов «несмешиваемости». *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*, **7**, 146-149.
- Тимофеев М.А. (2004) Экспериментальная оценка роли абиотических факторов в ограничении распространения эндемиков за пределы озера Байкал на примере амфипод. *Сибирский экологический журнал*, №1, 41-50.
- Тимофеев М.А., Шатилина Ж.М., Колесниченко А.В., Бедулина Д.С. (2005а) Индукция синтеза нмБТШ у амфипод при абиотических стрессовых воздействиях. Актуальные проблемы экологической физиологии, биохимии и генетики животных: материалы Междунар. научн. конф., Саранск: изд-во Мордов. Ун-та, 240-241.
- Тимофеев М.А., Шатилина Ж.М., Бедулина Д.С., Колесниченко А.В. (2005б) Оценка токсичности хлорида кадмия для байкальских эндемичных амфипод *Eulimnogammarus verrucosus* и *E. cyaneus* методами биохимического анализа. Четвертая Верещагинская байкальская конференция: Тезисы докладов и стендовых сообщений (Иркутск, 26 сентября- 1 октября, 2005 г.), Иркутск: Изд-во института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 187.
- Тимофеев М.А., Шатилина Ж.М., Колесниченко А.В. (2005с) Влияние абиотических стрессовых факторов на содержание, синтез и активность ряда стрессовых белков у байкальских и палеарктических амфипод. // Четвертая Верещагинская байкальская конференция: Тезисы докладов и стендовых сообщений (Иркутск, 26 сентября- 1 октября, 2005 г.), Иркутск: Изд-во института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 188.
- Тимофеев М.А. (2006а) Особенности механизмов активации АОС у пресноводных амфипод: I. Палеарктический *Gammarus lacustris* Sars (Amphipoda, Crustacea). *Сибирский экологический журнал*, (в печати).
- Тимофеев М.А. (2006б) Особенности механизмов активации АОС у пресноводных амфипод: II. Байкальский литоральный *Eulimnogammarus cyaneus* (Dyb.)

- (Amphipoda, Crustacea). *Сибирский экологический журнал*, (в печати).
- Тимофеев М.А., Шатилина Ж.М., Колесниченко А.В. (2006) Токсичность солей кадмия для байкальских эндемичных амфипод, некоторые биохимические последствия. *Сибирский экологический журнал*, (в печати).
- Хочачка П., Сомеро Дж. (1988) Биохимическая адаптация. М.: Мир, 567.
- Шатилина Ж.М., Тимофеев М.А. (2004) Индукция синтеза стрессовых белков семейства α -кристаллинов у амфипод, подвергнутых стрессовым воздействиям. Вестник Иркутского университета. Специальный выпуск. Материалы ежегодной научно-теоретической конференции молодых ученых, Иркутск: Иркут. ун.-т, 22-23.
- Шатилина Ж.М. Влияние абиотических стрессовых факторов на содержание, синтез и активность ряда стрессовых белков у байкальских и палеарктических амфипод. Дис. ... канд. биол. наук. Иркутск, 2005, 147.
- Almedia J.A., Diniz Y.S., Marques S.F.G., Faine L.A., Ribas B.O., Burneiko R.C., Novelli E.L.B. (2002) The use of the oxidative stress responses as biomarkers in *Nile tilapia* (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination. *Environment International*, **27**, №7, 673-679.
- Anderson J. A. (2002) Catalase activity, hydrogen peroxide content and thermotolerance of pepper leaves. *Scientia Horticulturae*, **95**, 277-284.
- Baldrian P., Gabiel J., Nerud F. (1996) Effect of cadmium on the ligninolytic activity of *Stereum hirsutum* and *Phanerochaete chrysosporium*. *Folia Microbiologia*, **41**, 4, 363-367.
- Bosch T.C.G., Krylow S.M., Bode H.R. (1988) Thermotolerance and synthesis of heat shock proteins: these responses are present in *Hydra attenuata* but absent in *Hydra oligactis*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., **85**, 7927-7935.
- Brauer R.W., Jordan M.R., Roer R.D., Williams E.E., Bekman M.Y., Galazii G.I., Sidelyova V.G. (1984) Pressure effect on thermal preference behavior in gammarid amphipods from 600-1000 m in Lake Baikal. *J. Therm. Biol.*, **3**, 205-215.
- Brennecke T., Gellner K., Bosch T. C. G. (1998) The lack of a stress response in *Hydra oligactis* is due to reduced *hsp70* mRNA stability. *Eur. J. Biochem.* **255**, 703-709.
- Converso D.A., Fernandez M.E., Tomaro M.L. (2000) Cadmium inhibition of a structural wheat peroxidase. *J. of Enzyme Inhibition*, **15**, 2, 171-183.
- Cooper J. (1989) Sunlight induced photochemistry of humic substances in natural waters: Major reactive species. Aquatic humic substances: Influence on fate and treatment of pollutants. *Adv. Chem. Ser.*, **219**, 332-362.
- Derham B.K, Harding J.J. (1999) Alpha crystalline as a molecular chaperone. *Prog. Retin. Eye Res.*, **4**, 463-509.
- Drotar A., Phelps P., Fall R. (1985) Evidence for glutathione peroxidase activities in cultured plant cells. *Plant Sci.*, **42**, 35-40.
- Feder M.E., Blair N., Figueras H. (1997) Natural thermal stress and heat-shock protein expression in *Drosophila* larvae and pupae. *Funct. Ecol.*, **11**, 90-100.
- Feder M., Hofmann G. (1999) Heat-shock proteins, molecular chaperones and the stress response: Evolutionary and ecological physiology. *Annu. Rev. Physiol.*, **61**, 243-82.
- Felton G.W., Summers C.B. (1995) Antioxidant systems in insects. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, **29**, 187-197.
- Fridovich I. (1998) Oxygen toxicity: a radical explanation. *The Journal of Experimental biology*, № **201**, 1203-1209.
- Geret F., Serafim A., Bebianno M.J. (2003) Antioxidant enzyme activities, metallothioneins and lipid peroxidation as biomarkers in *Ruditapes decussates*. *Ecotoxicol.*, **12**, 417-426.
- Gething M.J., Sambrook J. (1992) Protein folding in the cell. *Nature*, **355**, 33-46.
- Hartl F.U. (1996) Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature*, 381, 571-579.
- Hofmann G.E., Buckley B.A., Airaksinen S., Keen J., Somero G.N. (2000) Heat-shock protein expressions is absent in the Antarctic fish *Trematomus bernacchii* (Family Nototheniidae). *The J. of experimental Biol.*, **203**, 2331-2339.
- Hoffmann A.A., Sorensen J.G., Loeschcke V. (2003) Adaptation of *Drosophila* to temperature extremes: bringing together quantitative and molecular approaches. *J. of Thermal Biol.*, **28**, 175-216.
- Hough A.R., Naylor E. (1992) Biological and physical aspects of migration in the estuarine amphipod *Gammarus zaddachi*. *Marine-Biology*, 112, 3, 437-443.
- Howbrook D.N., Lynch J.M., Bainton N.J. (2001) An oxidative stress-responsive biosensor: responses to hydrogen peroxide generated by an extracellular enzyme. *Enzyme and Microbial Technology*, **29**, 521-526
- Ito H., Inaguma Y., Kato K. (2003) Small heat shock proteins participate in the regulation of cellular aggregates of misfolded protein. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, **121**, 27-32.
- Kozhova, O.M., Izmet'eva L.R. (1998) Lake Baikal. Evolution and Biodiversity, 447.
- Liang J., Tian-Xiao S., Akhtar J. (2000) Heat-induced conformational change of human lens recombinant α A- and α B-crystallins. *Molecular vision*, **6**, 10-14.
- Lindquist S., Craig E.A. (1988) The heat shock proteins. *Annu. Rev. Genet.*, **22**, 631-677.

- Lindstrom M. (1994) Factors affecting the horizontal migration of the benthic amphipod *Monoporeia affinis*. Abstr. Pap. Orient and Migrat. Sea.; Synp., Plymouth, 18-21 Apr., 1994. *J. Mar. Biol. UK*, **3**, 715.
- Memisogullari R., Taysi S., Bakan E. (2003) Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus. *Cell Biochem. Funct.*, **21**, 291-296.
- Momot W.T., Gowing H. (1972) Differential seasonal migration of the crayfish *Orconectes virilis* in marl lakes. *Ecology*, **53**, 479-483.
- Overlgonne J., Koninkx G., Pusztai A., Bardocz S., Kok W., Ewen B., Hendriks M., E van Dijk J. (2000) Decreased levels of heat shock proteins in gut epithelial cells after exposure to plant lectins. *Gut*, **46**, 679-687.
- Polla B.S., Katengwa S., Francois D. (1996) Mitochondria are selective targets for the protective effects of heat shock against oxidative injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **50**, 1031-1038.
- Pflugmacher S., Steinberg C.E.W. (1997) Activity of phase I and phase II detoxication enzymes in aquatic macrophytes. *J. Appl. Botany*, **71**, 144-146.
- Pflugmacher S., Spangenberg M., Steinberg C.E.W. (1999) Dissolved organic matter (DOM) and effect of the aquatic macrophytes *Ceratophyllum demersum* in relation to photosynthesis, pigment pattern and activity of detoxication enzymes. *J. Appl. Botany*, **73**, 184-190.
- Pflugmacher S., Tidwell L.F., Steinberg C.E.W. (2001) Dissolved humic substance can directly affect freshwater organisms. *Acta Hydrochem. Hydrobiol.*, **29**, 34-40.
- Sandalio I.M., Dalurzo H.C., Gomez M., Romero-Puertas M.C., Del Rio L.A. (2001) Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *J. of Exp. Botany*, **55**, 2115-2126.
- Sanders B.M. (1993) Stress proteins in aquatic organisms: an environmental perspective. *Critical reviews in Toxicology*, **23**, №1, 49-75.
- Sørensen J. G., Dahlgaard J., Loeschcke V. (2001) Genetic variation in thermal tolerance among natural populations of *Drosophila buzzatii*: down regulation of hsp70 expression and variation in heat stress resistance traits. *Functional ecology*, **15**, 289-296.
- Steinberg C. (2003) Ecology of humic substances in freshwaters. Springer-Verlag, 430.
- Takhteev V.V. (1997) The gammarid genus *Plesiogammarus* Stebbing, 1899, in Lake Baikal, Siberia (Crustacea Amphipoda Gammaridea). *Arthropoda Selecta*, **6**, №1-2, 31-54.
- Timofeyev M. A., Shatilina J. M., Stom D. I. (2001) Attitude to temperature factor of some endemic amphipods from Lake Baikal and Holarctic *Gammarus lacustris* Sars, 1863: A comparative experimental study. *Arthropoda selecta*, №2, 110-117.
- Timofeyev M. A., Wiegand C., Burnison B. K., Shatilina Z. M., Pflugmacher S., Steinberg C. E. W. (2004) Impact of natural organic matter (NOM) on freshwater amphipods. *Science of The Total Environment*, **319** №1-3, 115-121.
- Timofeyev M. (2006) Antioxidant enzyme activity in endemic Baikalean versus Palaeartic amphipods: Tagma- and size-related changes. *Comparative biochemistry and physiology B: Biochemistry and Molecular Biology*, **2**, (in press)
- Timofeyev M., Shatilina Z., Kolesnichenko A., Kolesnichenko V., Bedulina D., Steinberg C. (2006a) Natural organic matter (NOM) promotes oxidative stress in freshwater amphipods *Gammarus lacustris* Sars and *G. tigrinus* (Sexton). *Science of The Total Environment*, (in press).
- Timofeyev M., Shatilina Z., Kolesnichenko A., Kolesnichenko V., Pflugmacher S., Steinberg C. (2006b) Specific antioxidants reaction to oxidative stress promoted by natural organic matter (NOM) in two endemic amphipod species from Lake Baikal. *Environmental Toxicology*, **21**, 2, (in press).
- Tsugawa K. (1976) Direct adaptation of cells to temperature: similar changes of LDH isozyme patterns by in vitro and in situ adaptation in *Xenopus laevis*. *Comp. Biochem. and Physiol.*, **55**, №2, 259 - 263.
- Werner I., Nagel R. (1997) Stress proteins HSP60 and HSP70 in three species of amphipods exposed to cadmium, diazinon, dieldrin and fluoranthene. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **16**, №11, 2393-2403.