

Reaction of Energetic Metabolism and Antioxidant Enzymes to Hypoxia and Reoxygenation in Deep Water Amphipods *Ommatogammarus carneolus melanophthalmus* from Lake Baikal

Shirokova Y.A.¹, Khomich A.S.², Madyarova E.V.^{1,3}, Larina O.A.¹,
Mutin A.D.¹, Saranchina A.E.¹, Shatilina Zh.M.^{1,3*}

¹ Institute of Biology at Irkutsk State University, Irkutsk, 3 Lenin str., Russia

² International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University. 220070 Minsk, 23/1, Dolgobrodskaya str., Belarus

³ Baikal Research Centre, Irkutsk, 21 Lenin str., Russia

*E-Mail: zhshatilina@gmail.com

Received November 22, 2019

The aim of the current study was to estimate the effects of acute hypoxia and reoxygenation on energy metabolism and activities of antioxidant enzymes as markers of oxidative stress in Baikal deep water amphipods *Ommatogammarus carneolus melanophthalmus*. The amphipods were exposed under hypoxic conditions at 4 mg of O₂/L during 3 hours with following normoxic recovery at 9-11 mg of O₂/L for 3 hours. There were no significant changes in most of studied parameters except glucose content. High lactate content and antioxidant enzymes activity in control group and absence of their reaction to hypoxia and reoxygenation can be explained by difficulties with adaptation to atmospheric pressure in *O. carneolus melanophthalmus* or by low level of hypoxia for studied species.

Key words: Baikal, catalase, deep-water amphipods, glucose, glutathione S-transferase, glycogen, hypoxia, lactate, Ommatogammarus carneolus melanophthalmus, peroxidase, reoxygenation

Кислород является одним из важнейших экологических факторов, влияющих на горизонтальное и вертикальное распространение гидробионтов. Содержание O_2 в воде может уменьшаться в летний период при повышении температуры, за счет увеличения концентрации токсичных газов, таких как метан, сероводород, диоксид углерода, которые могут высвобождаются за счет деятельности газовых гидратов и метановых сипов и в процессе гниения погибших организмов (Земская и др., 2014; Чернова, Былова, 2004). При понижении концентрации O_2 в среде ниже оптимального уровня в организме возникает состояние гипоксии. Гипоксия – это патологический процесс, возникающий в организме по причине недостаточного снабжения тканей кислородом и приводящий к замедлению роста, потере репродуктивной способности, гибели организма (Breitburg, 2002; Рубцовенко, 2006). Особенно уязвимыми к изменению кислородных условий могут быть организмы, которые круглогодично обитают при высокой концентрации O_2 в среде (Кириченко, 2007; Тимофеев, 2010).

Пороговые значения концентрации кислорода, приводящие к состоянию гипоксии, у разных видов варьируют. Например, у атлантической трески *Gadus morhua* ростовые процессы замедляются при содержании растворенного в воде O_2 7 мг/л (Chabot, Dutil, 1999), а акулы избегают зоны с концентрацией O_2 ниже 3 мг/л. Считается, что концентрации растворенного O_2 ниже 2-3 мг/л вызывают гипоксию у большинства морских организмов и обитателей эстуариев, а концентрации 5-6 мг/л – у пресноводных (Vaquer-Sonyer, Duarte, 2008).

Кислород необходим клеткам организмов для образования энергии и тепла в процессе аэробного дыхания. В результате заключительного этапа данного процесса – окислительного фосфорилирования – синтезируется до 36 молекул АТФ на одну молекулу глюкозы (Нельсон, Кокс, 2014). При снижении в клетке содержания кислорода происходит угнетение энергетического метаболизма, и активируются альтернативные процессы получения энергии, не требующие участия O_2 . Среди

альтернативных способов образования АТФ самым распространенным является анаэробный гликолиз, позволяющий получить лишь 2 молекулы АТФ на одну молекулу глюкозы, а также существуют аспартатный, сукцинатный и ацетатный пути (Zwaan, Putzer, 1985).

Особенно опасно быстрое снижение содержания кислорода и следующая за этим реоксигенация, то есть возвращение в состояние нормоксии. Многократно показано, что после гипоксии и реоксигенации повышается выработка активных форм кислорода (АФК), приводящая к окислительному стрессу (Welker *et al.*, 2013). При недостатке O_2 в первую очередь нарушаются биоэнергетические процессы. В эксперименте Jimenez-Gutierrez *et al.* (2014) при понижении концентрации O_2 в среде с 6 мг/л до 1 мг/л у креветок *Litopenaeus vannamei* наблюдали уменьшение активности цитохром с-оксидазы и десятикратное увеличение содержания лактата в плазме. Другие исследователи отмечают, что при гипоксии происходит восстановление цитохромов электрон-транспортной цепи (Lushchak, Vagnyukova, 2006). Восстановленные цитохромы начинают производить большее количество АФК, что усугубляется в процессе возвращения уровня O_2 в исходное состояние.

Озеро Байкал характеризуется высоким содержанием кислорода, средняя концентрация которого в воде близка к 12 мг/л и даже на дне озера, на глубинах до 1642 м, не опускается ниже 9 мг/л (Галазий, 2017). Высокая насыщенность воды Байкала кислородом позволила сформироваться единственной в мире глубоководной пресноводной фауне, отличающейся высоким уровнем биоразнообразия и эндемизма (Timoshkin, 2001).

Среди байкальских организмов большой интерес представляет группа амфипод (Amphipoda; Crustacea), которая представлена в озере более чем 350 эндемичными видами и подвидами. Амфиподы населяют множество разнообразных типов субстратов, а также являются основным источником пищи для рыбы (Takhteev *et al.*, 2015). В то же время, в работе (Vaquer-Sonyer, Duarte, 2011) авторы

продемонстрировали, что ракообразные являются одним из наиболее чувствительных к гипоксии таксонов.

Известно, что разные виды байкальских амфипод различаются по степени устойчивости к гипоксии (Тимофеев, 2010). При этом в сравнении с литоральными видами представители глубоководного рода *Ommatogammarus* – *O. flavus* и *O. albinus* – отличаются наибольшей чувствительностью к понижению концентрации кислорода в среде. Пороговыми значениями содержания кислорода для этих видов, при которых происходила гибель амфипод, были $1,3 \pm 0,3$ и $1,2 \pm 0,2$ мг O_2 /л соответственно, в то время как для литорального байкальского вида амфипод *Eulimnogammarus cyaneus* пороговая концентрация кислорода была равна $0,5 \pm 0,1$ мг O_2 /л (Тимофеев, 2002). Ранее было показано, что у ряда байкальских литоральных амфипод в условиях гипоксии активируются альтернативные анаэробные процессы (Тимофеев и др., 2003; Тимофеев и др., 2006; Тимофеев и др., 2010; Кириченко, 2007). При этом степень активации анаэробных процессов и скорость утилизации продуктов анаэробного метаболизма у исследованных литоральных видов коррелировала с уровнем их устойчивости к гипоксии. Из глубоководных байкальских амфипод реакцию на понижение уровня кислорода в среде исследовали у *O. flavus* (Тимофеев и др., 2003; Кириченко, 2007), для которых также показана активация анаэробного гликолиза.

Еще одним представителем рода *Ommatogammarus* является вид *Ommatogammarus carneolus melanophthalmus* Bazikalova, 1945. Работы по изучению экологических характеристик данного вида, а также влияния стрессовых факторов на его представителей единичны (Madyarova et al., 2018). В то же время, для оценки устойчивости глубоководных экосистем Байкала к возможным экологическим изменениям, а также для формирования полной картины происходивших эволюционных процессов внутри фауны байкальских амфипод необходимы данные об экологических характеристиках как можно большего количества видов. Таким образом, целью данного исследования

была оценка воздействия гипоксии с последующей реоксигенацией на активность ферментов антиоксидантной системы и показатели аэробного и анаэробного энергетического метаболизма у эврибатных представителей глубоководной фауны амфипод озера Байкал – *O. carneolus melanophthalmus*.

MATERIALS AND METHODS

Объектом исследования выступал эндемичный вид *O. carneolus melanophthalmus* – эврибатный представитель глубоководной фауны амфипод. Прижизненный окрас тела исследуемых амфипод темно-оранжевый, глаза фиксированных особей темные с широким и вогнутым нижним краем (Тахтеев и др., 2015). *O. carneolus melanophthalmus* – активно плавающие бентопелагические падальщики. Благодаря пищевым предпочтениям данных амфипод, существует возможность их отбора в ловушки с приманкой из испорченной рыбы (Тахтеев, Дидоренко, 2015).

Отбор амфипод проводили в районе пос. Большие Коты (Южный Байкал) с использованием глубоководных ловушек с помещенной внутрь приманкой (испорченная рыба). Подготовленные ловушки погружали на глубину 150-300 м на 5 дней. Сразу же после поднятия, ловушки помещали в емкость с водой при температуре 4 °С и освобождали животных. После отлова амфипод транспортировали с лабораторию для последующей акклимации. Животных акклимировали в байкальской воде при 4 °С (среднегодовая температура оз. Байкал на глубинах ниже 100-300 м) с постоянной интенсивной аэрацией (концентрация O_2 10-12 мг/л) в течение 22-х дней. В качестве корма использовали байкальскую рыбу, смену воды в аквариумах проводили раз в два дня.

Для оценки влияния гипоксии и последующей реоксигенации на активность антиоксидантной системы и процессы аэробного и анаэробного метаболизма объект исследования экспонировали в воде с содержанием кислорода $4 \pm 0,5$ мг/л, с последующим восстановлением уровня кислорода до 9-11 мг/л (реоксигенация). Для снижения содержания кислорода воду с помощью

распылителя продували газообразным азотом до достижения необходимой концентрации кислорода. Для восстановления уровня кислорода в воде использовали аквариумный аэратор. Температура воды в ходе всей экспериментальной экспозиции составляла 4 °С. Фиксацию проб в жидком азоте проводили перед началом эксперимента (контрольная группа, содержащаяся в условиях предварительной акклимации), а также через 1 и 3 часа экспозиции животных, как в условиях низкого содержания кислорода, так и реоксигенации. Концентрацию кислорода в воде определяли с помощью анализатора растворенного кислорода МАРК-302Т (ВЗОР, Россия).

Анализ активности ферментов антиоксидантной системы проводили с использованием спектрофотометра Carry 50 Conc UV/visible spectrophotometer (Varian, Australia). Замороженные образцы растирали в натрий-фосфатном буфере ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{NaH}_2\text{PO}_4$, 0,1 М, pH 6,5) на льду в гомогенизаторах Поттера-Эльвейема. Активность пероксидазы, каталазы и глутатион-S-трансферазы измеряли согласно методикам Drotar *et al.* (1985), Aebi (1984) и Habig *et al.* (1974) с модификациями Timofeyev *et al.* (2009). Измеряли содержание общего белка по методу М. Брэдфорд (Bradford, 1976) для пересчета активности ферментов на мг белка.

Содержание энергетических метаболитов определяли энзиматическим спектрофотометрическим методом. Для выделения метаболитов к небольшому количеству гомогената добавляли раствор 0,6 М HClO_4 с 15 мМ Na-ЭДТА в соотношении 9:1 из расчета 1500 мкл раствора на 100 мг сырого веса. Далее кислоторастворимую фракцию центрифугировали при 12800 rpm при 4 °С. Полученный супернатант нейтрализовали, используя 5 М K_2CO_3 . Нейтрализованный экстракт инкубировали на холоде 60 минут для осаждения перхлоратов, после чего повторно центрифугировали. Содержание энергетических метаболитов определяли согласно методикам Morris *et al.* (2005) и Sokolova *et al.* (2012). Концентрацию лактата измеряли по реакции восстановления NAD^+ в НАДН в течение 40 минут с использованием лактатдегидрогеназы. Концентрацию глюкозы и

гликогена определяли по результатам реакции образования 6-фосфоглюконо-d-лактона из глюкозы и АТФ в присутствии ферментов глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы и гексокиназы.

Для проведения исследования использовали 220 особей *O. carneolus melanophthalmus*. Образцы анализировали в 5-и биологических и 3-х аналитических повторах. Статистическую обработку данных проводили в пакете программ «R» с применением непараметрического критерия Манна-Уитни с поправкой Хольма на множественные сравнения (R Core Team, 2018).

RESULTS AND DISCUSSION

В ходе работы не проводили отдельную оценку выживаемости *O. carneolus melanophthalmus* в условиях гипоксии. Однако как в условиях пониженного содержания кислорода, так и при реоксигенации, гибели амфипод не наблюдали.

Содержание глюкозы и гликогена в контроле составило $1,00 \pm 0,27$ мкмоль/г сырого веса и $4,12 \pm 0,73$ мкмоль/г сырого веса соответственно (Fig. 1). Из исследованных энергетических метаболитов при воздействии гипоксии и последующей реоксигенацией достоверные отличия от контрольных показателей наблюдали только в концентрации глюкозы. Статистически значимое понижение содержания глюкозы до $0,59 \pm 0,15$ мкмоль/г сырого веса наблюдали в конце 1-го часа экспозиции в условиях гипоксии. Также уровень глюкозы достоверно снижался до $0,60 \pm 0,16$ мкмоль/г спустя 3 часа от начала реоксигенации.

Содержание лактата в контроле было равно $1,56 \pm 0,16$ мкмоль/г сырого веса (Fig. 1). Экспозиция амфипод в условиях пониженного содержания кислорода и последующая реоксигенация не вела к изменению содержания лактата.

Активность ферментов антиоксидантной системы (АОС) - пероксидазы, каталазы и глутатион-S-трансферазы у контрольной группы особей составила $0,036 \pm 0,021$ нкат/мг белка, $723,17 \pm 146,86$ нкат/мг белка и $9,90 \pm 4,50$ нкат/мг белка соответственно (Fig. 2). Статистически значимых отличий от контрольных показателей в активности

исследованных ферментов при экспозиции в условиях гипоксии и реоксигенации у *O. carneolus melanophthalmus* не было выявлено.

В условиях достаточного снабжения организма кислородом, его окисление в процессе аэробного дыхания является основным источником АТФ. Во время гипоксии уровень поступающего в организм O_2 становится недостаточным для обеспечения энергетических затрат клетки, что может приводить к снижению содержания АТФ и энергетическому дефициту (Рубцовенко, 2006). Известно, что у ракообразных при кислородном дефиците происходит высвобождение глюкозы из запасенных биополимеров, связанная с необходимостью подачи главного субстрата для гликолиза. Так, у крабов *Palaemon elegans* и *P. serratus* уровень глюкозы повышался в 2 раза при шестичасовой гипоксии, однако восстанавливался до контрольных значений в ходе реоксигенации (Taylor, Spicer, 1987). Глюкоза поступает в гемолимфу ракообразных двумя путями: либо происходит прямое всасывание употребленного в пищу углевода через гепатопанкреатические и кишечные эпителиальные клетки, либо D-глюкоза поступает из гепатопанкреаса, где она высвобождается из запасенного гликогена или синтезируется в процессе глюконеогенеза (Sanchez-Paz et al., 2006). Наиболее распространенным путем повышения содержания глюкозы является гликогенолиз, однако некоторые ракообразные используют в качестве основного запасного источника энергии триацилглицериды (Becker et al., 2013). Наблюдаемое уменьшение содержания глюкозы на начальном этапе гипоксии и по завершении экспозиции в нормоксических условиях может быть связано с повышением интенсивности гликолитических процессов для поддержания необходимого уровня АТФ при ответе на стрессовое воздействие у *O. carneolus melanophthalmus*. Отсутствие изменений в содержании гликогена при одновременном восстановлении содержания глюкозы может свидетельствовать о включении глюконеогенеза, то есть получения глюкозы из запасных липидов.

У многих ракообразных при недостатке O_2 активируется анаэробный гликолиз, что было

показано как на литоральных, так и на глубоководных амфиподах, в том числе байкальских (Chang, Thiel, 2015; Тимофеев и др., 2006; Тимофеев и др., 2004). Однако в настоящем исследовании не было выявлено накопления молочной кислоты при гипоксическом воздействии, и, следовательно, не происходило активации анаэробного гликолиза у изучаемых амфипод. Возможно, отсутствие реакции лактата на гипоксию с последующей реоксигенацией связано с тем, исследуемый вид является более чувствительным к изменению давления среды, чем исследованные ранее *O. flavus* и *O. albinus*, так как он встречается в гораздо более узком диапазоне глубин. Так, *O. carneolus melanophthalmus* представлен в большом количестве на глубине 200-300 м (сборы А.В. Кондратьевой и М.А. Тимофеева, 1998-2000 гг.) (Тахтеев, 2000), а массовые виды *O. flavus* и *O. albinus* обитают в диапазонах глубин 2,5-1300 и 50-1300 соответственно (Базикалова, 1945). В связи с этим, при адаптации к изменению давления у исследуемого вида в контрольной группе содержание лактата выше ($1,56 \pm 0,16$ мкмоль/г сырого веса) по сравнению с таковым у *O. flavus* ($0,08 \pm 0,02$ мкмоль/г сырого веса) (Aхеноv-Gribanov et al., 2016). Скорее всего активация анаэробного гликолиза у *O. carneolus melanophthalmus* произошла еще до начала эксперимента, и даже через 22 дня лабораторной акклимации организм не утилизировал накопившийся лактат.

Отсутствие активации анаэробного гликолиза в условиях гипоксии и реоксигенации (при парциальном давлении O_2 30-70 мм рт. ст. и 140-150 мм рт. ст. соответственно) также ранее было описано у глубоководных декапод рода *Chaceon* (Henry et al., 1990). У *C. quinquedens* не обнаружили изменения в содержании лактата, тогда как у *C. fenneri* его содержание в процессе гипоксии с последующей нормоксией увеличилось в 2 раза. Данные виды крабов также отличались по сродству их гемоцианинов (дыхательных пигментов, переносящих кислород по тканям) к O_2 . У более кислородозависимого *C. quinquedens* данный показатель был выше, чем у *C. fenneri*, гемоцианины которого связывают O_2 медленнее (Henry et al., 1990).

Известно, что экспозиция аэробных гидробионтов в условиях острой гипоксии с последующей реоксигенацией вызывает окислительный стресс (Li, Jackson, 2002; Parrilla-Taylor, Zenteno-Savin, 2011). За счет угнетения дыхательной цепи происходит уменьшение содержания АТФ, активируется менее эффективный путь получения энергии – анаэробный гликолиз. В результате этого процесса происходит накопление

лактата, который в больших концентрациях вызывает клеточный ацидоз (Нельсон, Кокс, 2014). В митохондриях без главного акцептора (кислорода) накапливаются электроны (Lushchak, Vagnyukova, 2006). При реоксигенации электрон-транспортная цепь начинает производить повышенный уровень АФК, выработка которых также усиливается высокой интенсивностью утилизации запасенных ранее электронов (Virani, Rees, 2000).

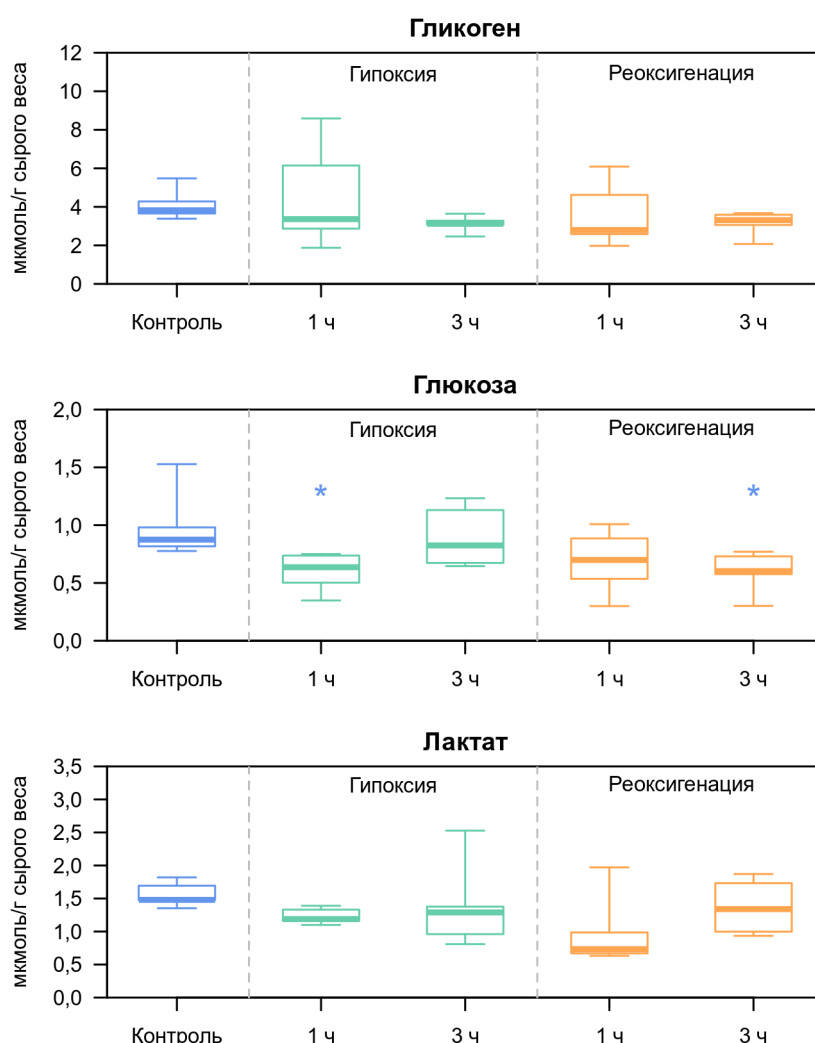


Figure 1. Динамика содержания энергетических метаболитов у *O. carneolus melanophthalmus* при экспозиции в условиях гипоксии и реоксигенации. * – достоверное отличие от контрольных значений.

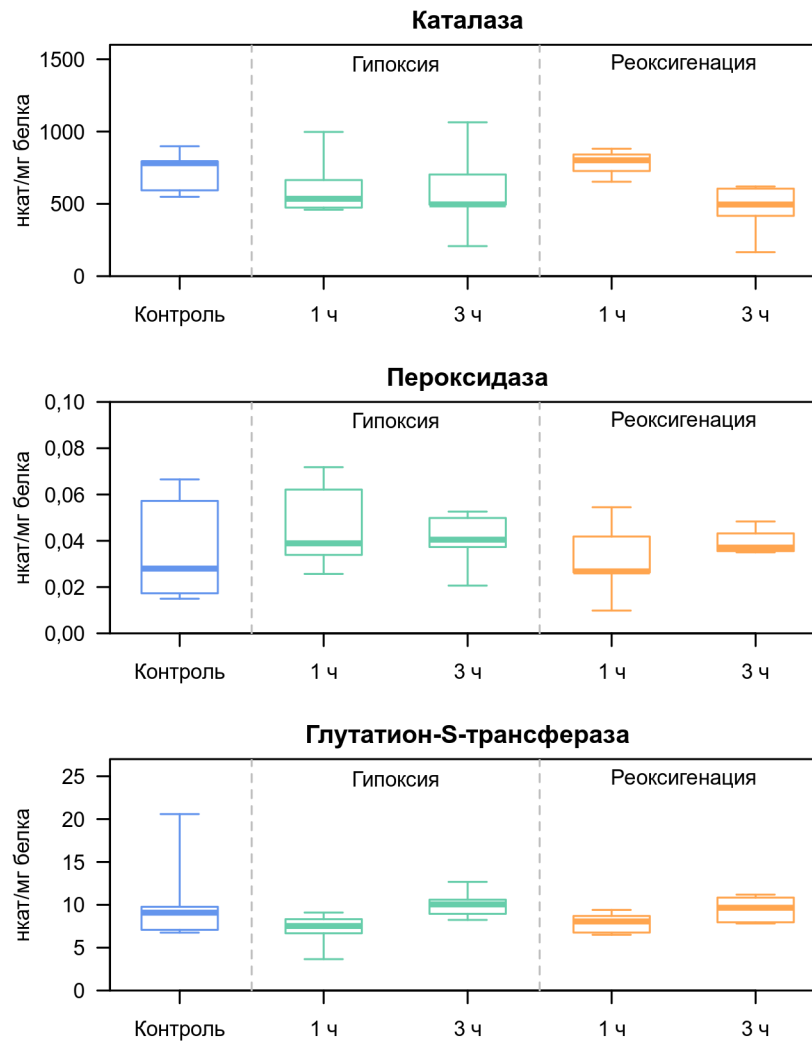


Figure 2. Динамика активности антиоксидантных ферментов у *O. carneolus melanophthalmus* при экспозиции в условиях гипоксии и реоксигенации.

В результате проведенного исследования было выявлено, что гипоксия с последующей реоксигенацией не вызывает ответа со стороны антиоксидантной системы исследуемых амфипод. При сравнении уровней активности исследованных ферментов АОС у *O. carneolus melanophthalmus* с таковыми у эврибатного вида *O. flavus*, установленными ранее (Ахенов-Грибанов et al., 2016), показано что у исследуемого нами вида активность всех изученных ферментов в два раза выше. Можно предположить, что отсутствие в проведенной экспозиции реакции ферментов АОС на гипоксию с реоксигенацией связано с уже изначально высокой активностью данных ферментов. Не исключено, что использованные в работе условия экспозиции могли

оказаться недостаточными для формирования окислительного стресса.

Таким образом, в работе показано, что у глубоководного байкальского эндемичного вида *O. carneolus melanophthalmus* в условиях гипоксии и реоксигенации не происходит активации анаэробного гликолиза, а также ферментов АОС (каталазы, пероксидазы, глутатион S-трансферазы) в отличие от ранее исследованных литоральных байкальских амфипод и глубоководного *O. flavus*. Для более глубокого понимания механизмов стресс-ответа у *O. carneolus melanophthalmus* при воздействии низкого содержания кислорода требуется проведение дополнительных экспериментов.

ACKNOWLEDGEMENTS

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ и Правительства Иркутской области 17-44-388067 р_а, а так же при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ 19-54-04008, совместного гранта РНФ и Объединения им. Гельмгольца 18-44-06201, гранта ИГУ для поддержки аспирантов и молодых сотрудников 091-19-219. Авторы выражают благодарность директору НИИ биологии ФГБОУ ВО «ИГУ», д.б.н. Тимофееву М.А.

REFERENCES

- Базикалова А.Я. (1945) Амфиподы озера Байкал. Тр. Байкал. лимнолог. ст., **11**, 1–440.
- Галазий Г.И. (2017) Байкал в вопросах и ответах. Москва: 6-е изд., и доп., ред. М. И. Кузьмин, 340 с.
- Земская Т.И., Ситникова Т.Я., Хлыстов О.М. (2014) Исследование глубинных зон Байкала. Вестник Российской академии наук, **84(6)**, 500–505.
- Кириченко К.А. (2007) Отношение байкальских и палеарктических амфипод к кислороду как фактору среды и механизмы адаптации при снижении его уровня: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16; 03.00.04; Иркутск, 134 с.
- Нельсон Д., Кокс М. (2014) Основы биохимии Ленинджера: в 3 т., Москва: БИНОМ: Лаборатория знаний, **2**, 633 с.
- Рубцовенко А.В. (2006) Патологическая физиология. Москва: МЕДпресс-информ, 608 с.
- Тахтеев В. В. (2000) Очерки о бокоплавах озера Байкал: Систематика, сравнительная экология, эволюция. Издательство Иркутского университета, 355 с.
- Тахтеев В.В., Дидоренко С.И. (2015) Фауна и экология бокоплавов озера Байкал: Учебное пособие. Иркутск: Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 115 с.
- Тимофеев М.А., Кириченко К.А., Рохин А.В. (2003) К вопросу о существовании механизмов устойчивости к гипоксии у байкальских амфипод. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН, **7**, 152–153.
- Тимофеев М.А., Кириченко К.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., Кириченко К.А., Рохин А.В., Бедулина Д.С., Чернышова К.П., Побежимова Т.П. (2006) Индукция анаэробных процессов у байкальских эндемиков *Eulimnogammarus vittatus* (Dyb.) и *E. verrucosus* (Dyb.) (Amphipoda, Crustacea). JSPB, **2(1)**, 56–61.
- Тимофеев М.А. (2010) Экологические и физиологические аспекты адаптации к абиотическим факторам среды эндемичных байкальских и палеарктических амфипод: дис. ... док. биол. наук: 03.02.08; Томск, 384 с.
- Чернова Н.М., Былова А.М. (2004) Общая экология. Москва: Дрофа, **2**, 416 с.
- Aebi H. (1984) Catalase in vitro. Methods in enzymology, **105**, 121–126.
- Axenov-Gribanov D.V., Bedulina D.S., Shatilina Zh.M., Jakob L., Vereshchagina K.P., Lubyaga Yu.A., Gurkov A.N. (2016) Thermal preference ranges correlate with stable signals of universal stress markers in Lake Baikal endemic and Holarctic amphipods. Plos one, **11(10)**, 1–23.
- Becker J., Ortmann C., Wetzel M.A., Winkelmann C., Koop J.H.E. (2013) Mate guarding in relation to seasonal changes in the energy reserves of two freshwater amphipods (*Gammarus fossarum* and *G. pulex*). Freshwater biology, **58(2)**, 372–381.
- Bradford M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein-dye binding. Analytical biochemistry, **72(1–2)**, 248–254.
- Breitburg D. (2002) Effects of hypoxia, and the balance between hypoxia and enrichment, on coastal fishes and fisheries. Estuaries, **25(4)**, 767–781.
- Chabot D., Dutil J.-D. (1999) Reduced growth of Atlantic cod in non-lethal hypoxic conditions. Journal of Fish Biology, **55**, 472–491.

- Chang E.S., Thiel M. (2015) The natural history of the crustacean: Physiology: V. 4. Oxford university press, 512 pp.
- Drotar A., Phelps P., Fall R. (1985) Evidence for glutathione peroxidase activities in cultured plant cells. *Plant science*, **42(1)**, 35–40.
- Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B. (1974) Glutathione S–transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological chemistry*, **249(22)**, 7130–7139.
- Henry R.P., Handley H.L., Krarup A., Perry H.M. (1990) Respiratory and cardiovascular responses of two species of deep-sea crabs, *Chaceon fenneri* and *C. quinquedens*, in normoxia and hypoxia. *Journal of crustacean biology*, **10(3)**, 413–422.
- Jimenez-Gutierrez L.R., Uribe-Carvajal S., Sanchez-Paz A., Chimeo C., Muhlia-Almazan A. (2014) The cytochrome c oxidase and its mitochondrial fuction in the whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* during hypoxia. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, **46(3)**, 189–196.
- Li C., Jackson R.M. (2002) Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *American Journal of Physiology – Cell Physiology*, **282(2)**, 227–241.
- Lushchak V.I., Bagnyukova T.V. (2006) Effects of different environmental oxygen levels on free radical processes in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, **144**, 283–289.
- Madyarova E.V., Shatilina Zh.M., Shirokova Y.A., Ржечицкий Я.А., Vasilyeva U.A., Lozovoy D.V., Axenov-Gribanov D.V., Timofeyev M.A. (2018) The estimation of impact of water-soluble fraction crude oil to deep-water Baikal amphipod *Ommatogammarus carneolus melanophthalmus*. *Journal of stress physiology and biochemistry*, **14(4)**, 54–59.
- Morris S., Van Aardt W.J., Ahern M.D. (2005) The effect of lead on the metabolic and energetic status of the Yabby, *Cherax destructor*, during environmental hypoxia. *Aquatic toxicology*, **75(1)**, 16–31.
- Parrilla-Taylor D.P., Zenteno-Savin T. (2011) Antioxidant anzyme activities in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in response to environmental hypoxia and reoxygenation, **318**, 379–383.
- R Core Team (2018) R foundation for statistical computing. R: a language and environment for statistical computing [Electronic source]. URL <https://www.R-project.org/>, Vienna, Austria.
- Sanchez-Paz A., Garcia-Carreno F., Muhlia-Almazan A., Peregrino-Uriarte A.B., Hernandez-Lopez J., Yepiz-Plascencia G. (2006) Usage of energy reserves in crustaceans during starvation: Status and future directions. *Insect biochemistry and molecular biology*, **36(4)**, 241–249.
- Sokolova I.M., Frederich M., Bagwe R., Lannig G., Sukhotin A.A. (2012) Energy homeostasis as an integrative tool for assessing limits of environmental stress tolerance in aquatic invertebrates. *Marine Environmental Research*, **79**, 1–15.
- Takhteev V.V., Berezina N.A., Sidorov D.A. (2015) Checklist of the Amphipoda (Crustacea) from continental waters of Russia, with data on alien species. *Arthropoda Selecta*, **24(3)**, 335–370.
- Taylor A.C., Spicer J.I. (1987) Metabolic responses of the prawns *Palaemon elegans* and *P. serratus* (Crustacea: Decapoda) to acute hypoxia and anoxia. *Marine Biology*, **95**, 521–530.
- Timofeyev M.A. (2002) On the role of adaptive abilities in the distribution of endemic amphipods from Lake Baikal. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, **28**, 1613–1615.
- Timofeyev M.A., Protopopova M., Pavlichenko V., Steinberg E.W. (2009) Can acclimation of amphipods change their antioxidative response? *Aquat. Ecol.*, **43**, 1041–1045.
- Timofeyev M.A., Kirichenko K.A., Shatilina Z.M., Rokhin A.V., Pobezhimova T.P. (2010) Relations of Baikal and Palaeartic Amphipoda with oxygen as an environmental factor and the mechanisms of adaptation to a decrease in its level. *Contemporary problems of ecology*, **5(3)**, 717–724.

- Timoshkin O.A. (2001) Lake Baikal: diversity of fauna, problems of its immiscibility and origin, ecology and "exotic" communities. Index of animal species inhabiting Lake Baikal and its catchment area, **1**, 74–113.
- Vaquer-Sunyer R., Duarte C.M. (2011) Temperature effects on oxygen thresholds for hypoxia in marine benthic organisms. *Global Change Biology*, **17**, 1788–1797.
- Virani N.A., Rees B.B. (2000) Oxygen consumption, blood lactate and interindividual variation in the gulf killfish, *Fundulus grandis*, during hypoxia and recovery. *Comp. Biochem. Physiol.*, **126**, 397–405.
- Welker A.F., Moreira D.C., Campos E.G., Hermes-Lima M. (2013) Role of redox metabolism for adaptation of aquatic animals to drastic changes in oxygen availability. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, **165**, 384–404.
- Zwaan A.Z., Putzer V. (1985) Metabolic adaptations of intertidal invertebrates to environmental hypoxia (a comparison of environmental anoxia to exercise anoxia). *Symposia of the Society for Experimental Biology*, **39**, 33–62.