

На правах рукописи



Фокина Наталья Николаевна

**ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ МИДИЙ *MYTILUS EDULIS* L.
БЕЛОГО МОРЯ**

Специальность 03 00 04 - биохимия

Автореферат диссертации на соискание
ученой степени кандидата биологических наук



003 162304

**Петрозаводск
2007**

Работа выполнена в лаборатории экологической биохимии
Института биологии Карельского научного центра
Российской академии наук

Научный руководитель

член-корреспондент РАН,
доктор биологических наук,
НЕМОВА Нина Николаевна

Официальные оппоненты

доктор биологических наук,
АВРОВА Наталья Федоровна

доктор биологических наук,
МУХИН Вячеслав Анатольевич

Ведущее учреждение

Международный биотехнологиче-
ский центр Московского государст-
венного университета

Защита состоится « 8 » ноября 2007 года в 12 00 часов на заседании Диссертационного совета КМ 212 087 01 при Карельском государственном педагогическом университете по адресу 185035 Республика Карелия, г Петрозаводск, ул Пушкинская, 17, ауд 113 главного корпуса.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Карельского государственного педагогического университета.

Автореферат разослан « 5 » октября 2007 г

Ученый секретарь
Диссертационного совета



Малкиель А И

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Проблема устойчивости организма, его адаптации к изменяющимся факторам среды остается одной из центральных проблем биологии. Адаптация обеспечивается деятельностью целого комплекса механизмов, среди которых важную роль играют биохимические механизмы, лежащие в основе развития компенсаторных реакций клетки в ответ на действие неблагоприятных факторов среды (Хочачка, Сомеро, 1988, Озернюк, 2003). Известно, что устойчивость организма к различным воздействиям в значительной степени определяется особенностями липидного обмена (Крепс, 1981, Thompson, 1986, Lopez et al., 2006). Поскольку липидные компоненты участвуют во всех важнейших физиолого-биохимических процессах организма (Крепс, 1981, Дятловицкая, Безуглов, 1998), липиды играют важную роль в компенсаторных реакциях организма на воздействие различных факторов среды.

Широко распространенным способом изучения механизмов адаптаций является постановка аквариальных экспериментов, в ходе которых происходит акклимация организма к одному определенному фактору среды (Хлебович, 1981, Озернюк, 2003). Удобными объектами для изучения механизмов адаптации являются двустворчатые моллюски, для которых характерен прикрепленный образ жизни. Известно, что обитатели прибрежной зоны моря, в том числе обыкновенная мидия *Mytilus edulis* L., способны существовать при сильных колебаниях соленостного, кислородного и температурного режимов. Модулирующая роль липидного состава у водных организмов в температурных адаптациях сравнительно хорошо изучена (Крепс, 1981, Хочачка, Сомеро, 1988), а модификации липидного спектра при смене солености и при недостатке кислорода (аноксии) исследованы недостаточно. Имеется большое количество работ, посвященных участию липидов в адаптивной функции при изменении солености среды обитания у высших ракообразных (Chapelle, 1978, Luvizotto-Santos et al., 2003) и рыб (Harel et al., 2001, Hansen et al., 2002, Cordier et al., 2002, Shvukamat, Roy, 2005, Martinez-Alvarez et al., 2005), относящихся к группе осморегуляторов. Исследований, описывающих изменение липидного состава при смене солености морской воды у осмоконформеров, к которым относятся мидии, немного (Glemet, Ballantyne, 1995, Кашин, 1997, Hall et al., 2002). Мидии *Mytilus edulis* L., обитающие в прибрежной зоне моря, являются типичными факультативными анаэробами. Способность мидий выдерживать длительное отсутствие кислорода обеспечивается деятельностью целого ряда адаптивных механизмов (Громосова, Шапиро, 1984, Алякринская, 2004, David et al., 2005). Однако роль липидов в компенсаторных реакциях моллюсков в ответ на анаэробные условия среды исследована недостаточно. Следует отметить, что исследование ответной реакции на уровне липидного состава морских двустворчатых моллюсков важно также для анализа эволюционных аспектов проблемы эвригалинности и теории адаптации в целом.

Цели и задачи исследования. Цель настоящей работы - изучение роли липидного состава у мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря в ответных реакциях на изменение основных факторов среды их обитания (солености и аноксии).

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- ✓ провести сравнительное исследование состава липидов мидий *Mytilus edulis* из различных местообитаний в Белом море (литораль и сублитораль)
- ✓ выявить возрастные особенности липидного состава у литоральных и сублиторальных мидий
- ✓ проанализировать распределение липидных компонентов по органам у литоральных и сублиторальных мидий

✓ исследовать влияние различной солености морской воды в аквариальном эксперименте на липидный состав целых организмов и отдельных органов (жабры, нога, дистальная и сагиттальная части мантии) литоральных и сублиторальных мидий

✓ рассмотреть изменения липидного состава литоральных и сублиторальных мидий при воздействии экспериментальной краткосрочной аноксии

Научная новизна. Впервые исследован липидный состав мидий *Mytilus edulis* Белого моря, проведен сравнительный анализ состава липидов моллюсков из различных местообитаний (литораль и сублитораль), а также выявлены возрастные особенности состава липидных компонентов у *Mytilus edulis*. Дана характеристика липидного состава различных органов (жабры, нога, дистальная и сагиттальная части мантии) литоральных и сублиторальных мидий Белого моря. Получены новые данные по изменению липидного состава литоральных и сублиторальных мидий под действием основных абиотических факторов среды их обитания (солености и аноксии)

Практическое значение работы. Полученные данные расширяют представления о роли липидов в биохимической адаптации водных организмов к естественным факторам окружающей среды. Представленные результаты и сделанные на их основе выводы могут использоваться при физиолого-биохимической индикации состояния моллюсков в различных условиях обитания, и служить основой для решения некоторых задач экологического мониторинга. Материалы диссертации используются в учебном процессе при чтении лекционных курсов «Экологическая биохимия» и «Биохимия животных» для студентов ПетрГУ и КГПУ

Апробация работы. Основные результаты диссертации были представлены на международной конференции «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» (Петрозаводск, 2004), 45th FEBS Special meeting «International conference on the bioscience of lipids (ICBL)» (Greece, 2004), IX международной конференции «Проблемы изучения, рационального использования и охраны ресурсов Белого моря» (Петрозаводск, 2004), всероссийской конференции молодых исследователей «Физиология и медицина» (Санкт-Петербург, 2005), XIV школе-конференции «Актуальные проблемы биологии развития и биотехнологии» (Звенигород, 2005), X научной конференции БС МГУ (пос. Пояконда, 2006), 47th ICBL (Hungary, 2006), 2-ой международной конференции «Экологические исследования беломорских организмов» (БС «Картеп» ЗИН, 2007), 48th ICBL (Finland, 2007), 2-ой научной конференции с участием стран СНГ «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» (Петрозаводск, 2007)

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 24 печатные работы, из которых 7 статей и 17 тезисов докладов

Структура и объем работы. Работа состоит из введения, глав обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов исследований, обсуждения результатов, заключения и выводов. Диссертационная работа изложена на 157 страницах машинописного текста, содержит 30 таблиц, 21 рисунок. Список цитируемой литературы включает 225 названий, из них 131 иностранных.

Благодарности. Автор выражает глубокую и искреннюю признательность своим учителям и наставникам научному руководителю чл.-корр РАН, д.б.н. Н.Н. Немовой, научному консультанту к.б.н. З.А. Нефедовой, сотрудникам группы липидологии лаборатории «Экологической биохимии» к.б.н. П.О. Ригатти, к.б.н. Т.Р. Руоколайнен, к.б.н. О.Б. Васильевой, Л.В. Марковой за всестороннюю помощь, ценные советы и рекомендации. Особая благодарность руководителю БС «Картеп» ЗИН РАН, д.б.н. В.Я. Бергеру за предоставленную возможность

проводить исследования на биостанции, а также стн с ББС «Картеш» ЗИН РАН, кбн В.В Халаману и нс ИБ КарНЦ РАН, кбн И Н Бахмету за помощь в постановке экспериментов

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы

В обзоре литературы изложены современные представления о роли липидов в процессе биохимической адаптации водных организмов к основным факторам среды обитания. Рассмотрен объект изучения механизмов адаптаций – обыкновенная мидия *Mytilus edulis* L., а также описаны приспособительные реакции мидий к основным факторам среды их обитания (солености и аноксии). Обобщены имеющиеся в литературе данные о составе липидов морских двустворчатых моллюсков в норме и при воздействии неблагоприятных факторов среды обитания. Обозначены нерешенные вопросы при изучении роли липидов в адаптивных процессах морских двустворчатых моллюсков к основным факторам среды обитания.

Глава 2. Материал и методы исследований.

Материал исследования и постановка экспериментов. Объектом исследования служил двустворчатый моллюск, типичный обитатель прибрежной зоны Белого моря – обыкновенная мидия *Mytilus edulis* L. Сбор материала и эксперименты были проведены на Беломорской биологической станции «Картеш» Зоологического института РАН, расположенной в губе Чупа Кандалакшского залива Белого моря. Сбор сублитеральных мидий проводили с обрастаний искусственных субстратов в бухте Круглая (губа Чупа, Кандалакшский залив) с глубин 1,5–2,5 м. Литеральных животных собирали со среднего горизонта литорали на естественных мидиевых банках Иванов Наволок и о Матренин (Керетский архипелаг, губа Чупа). Для изучения возрастных особенностей липидного состава *Mytilus edulis* моллюски были собраны в марте 2004 г. литоральные – в возрасте 4+ и 8+, сублитеральные – 0+, 1+, 2+, 3+, 4+, 5+–6+. При исследовании тканевой специфичности распределения липидов были использованы мидии в возрасте 8+ (литоральные моллюски) и 4+ (сублитеральные моллюски). Для изучения влияния различной солености и краткосрочной аноксии на липидный состав мидий в 2004–2006 гг. были поставлены аквариальные эксперименты. В экспериментах использовались сублитеральные мидии в возрасте 3+–4+ года (размер раковины – 55 мм) и литоральные животные в возрасте 6+–8+ лет (размер раковины – 36 мм). В ходе эксперимента по влиянию различной солености две группы мидий (литоральные и сублитеральные моллюски) 14 суток находились в аквариумах с соленостью воды равной 5, 15, 25, 35 и 45‰. Концентрация солей 25‰ в эксперименте была принята за контроль. При изучении влияния краткосрочной аноксии литоральные и сублитеральные мидии в течение 12 и 24 часов находились в аноксичных условиях (на воздухе), а контрольная группа – в стандартных условиях (в аэрируемой воде).

Экстракция липидов и анализ общих липидов. По истечении времени экспозиции экспериментов мягкие ткани мидий фиксировали в 96% этаноле для проведения дальнейшего анализа. Липиды целых мидий и отдельных органов (жабры, нога, дистальная и сагитальная части мантии) экстрагировали по методу Folch et al (1957). Фракционирование суммарных липидов проводили на пластинках «Silufol» в системе растворителей петролейный эфир/серный эфир/уксусная кислота (90/10/1, по объему). Количественное содержание фосфолипидов, триацилглицеринов, эфиров холестерина определяли гидроксамитным методом (Сидоров и др., 1972), холестерин – по реакции с окрашивающим реагентом (Engelbrecht et al., 1974).

Определение жирнокислотного состава. Выделенные липиды подвергали прямому метанолу (Цыганов, 1971) Полученные смеси метиловых эфиров жирных кислот определяли методом газофлюидной хроматографии на приборе «Хроматэк Кристалл-5000 1» (Россия)

Изучение состава фосфолипидов Фракционный анализ фосфолипидов осуществляли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборах «Цвет-4000» (Россия) и «Стайер» (Россия) по методу Arduini et al (1996)

Статистическая обработка данных. Достоверность различий данных в отдельных экспериментах оценивали с помощью непараметрического критерия U Уилкоксона-Манна-Уитни (Гублер, Генкин, 1969) Различия считались достоверными при $p \leq 0,05$

Глава 3. Результаты исследований

3.1 Липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря

3.1.1 Общая характеристика состава липидов литоральных и сублиторальных мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря

Анализ полученных данных показал, что состав общих липидов (ОЛ) литоральных и сублиторальных мидий характеризуется доминированием структурных липидных компонентов – фосфолипидов (ФЛ) и холестерина (ХС), которые составляли до 7,9 и 4,8% от сухого веса, соответственно Запасные липиды были представлены триацилглицеринами (ТАГ) и эфирами холестерина (ЭХС) (0,0-2,1 и 0,0-0,8% от сухого веса, соответственно) Во фракционном составе фосфолипидов были идентифицированы фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилэтаноламин (ФЭА), фосфатидилинозитол (ФИ), фосфатидилсерин (ФС), лизофосфатидилхолин (ЛФХ), сфингомиелин (СМ) и неидентифицируемые фракции липидов (НЛ Х1 и Х2), которые составляли 0,6-1,6, 0,2-1,1, 0,0-0,7, 0,2-0,4, 0,5-1,8, 0,0-0,5, 0,0-0,9 и 0,5-2,9% от сухого веса, соответственно В жирнокислотном спектре литоральных и сублиторальных мидий Белого моря отмечено, характерное для морских животных, высокое (до 45% от суммы ЖК) содержание n-3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), главным образом, 16 4n-3 (4,2-6,0%), эйкозапентаеновой 20 5n-3 (9,7-16,5%) и докозагексаеновой 22 6n-3 (10,7-19,4%) кислот Среди n-6 полиенов у мидий преобладали линолевая 18 2n-6 (до 2,9%), арахидоновая 20 4n-6 (до 7,4%) и 22 2n-6 (до 2,9%) кислоты Как у литоральных, так и у сублиторальных мидий в составе ОЛ были обнаружены неметиленразделенные жирные кислоты (НМРЖК), которые составляли от 0,7 до 1,0% от суммы ЖК Доминирующими моноеновыми кислотами были пальмитолеиновая 16 1n-7, олеиновая 18 1n-9, вакценовая 18 1n-7 и гондоиновая 20 1n-9 кислоты, которые составляли 1,6-5,7, 2,3-8,3, 2,5-5,8 и 2,6-4,8% от суммы ЖК, соответственно Пальмитиновая 16 0 кислота была преобладающей (до 15,7% от суммы ЖК) среди насыщенных жирных кислот (НЖК)

3.1.2 Сравнительный анализ липидного состава мидий *Mytilus edulis* L. из различных местообитаний (литораль и сублитораль)

При исследовании особенностей липидного состава мидий, обитающих в разных зонах Белого моря (литораль и сублитораль), сравнивались моллюски одного возраста (4+) Состав липидов литоральных моллюсков характеризуется высоким содержанием структурных липидных компонентов (ХС, ФХ, ФЭА, ФИ и СМ), 18 0, 18 1n-7 и n-6 ПНЖК, тогда как у сублиторальных мидий отмечена повышенная концентрация ТАГ, ЭХС, 16 0, 16 1n-7 и n-3 ПНЖК Кроме того, у литоральных моллюсков незаметно, но достоверно ниже уровень НМРЖК, по сравнению с сублиторальными особями

3.1.3 Возрастные особенности липидного состава литоральных и сублиторальных мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря

Для литоральных мидий 4-х и 8-ми лет характерно отсутствие различий в составе структурных липидов (ФЛ и ХС) и отдельных фракций ФЛ, тогда как в спектре запасных липидов и жирных кислот были отмечены некоторые особенности. Так у 4+ мидий показано высокое содержание запасных липидов и 18 0 кислоты, а у 8-ми летних моллюсков наблюдалось повышенное содержание 20 5п-3, 22 6п-3, НМР и моноеновых ЖК.

При изучении липидного состава сублиторальных мидий в возрастном ряду от 0+ до 5+-6+ были выявлены некоторые различия. У молодых 0+-1+ мидий заметно выше содержание основных (ХС и ФЭА) и минорных (ФИ, СМ) мембранных липидов, тогда как старшие особи (от 2+ до 5+-6+) характеризовались повышенными концентрациями запасных липидных компонентов (ТАГ и ЭХС), п-3 ПНДЖК и НМРЖК. Концентрация 18 2п-6 кислоты у сублиторальных мидий повышалась с возрастом, тогда как уровень 20 4п-6 кислоты, наоборот, был ниже у старших моллюсков.

3.1.4 Распределение липидов по органам у литоральных и сублиторальных мидий

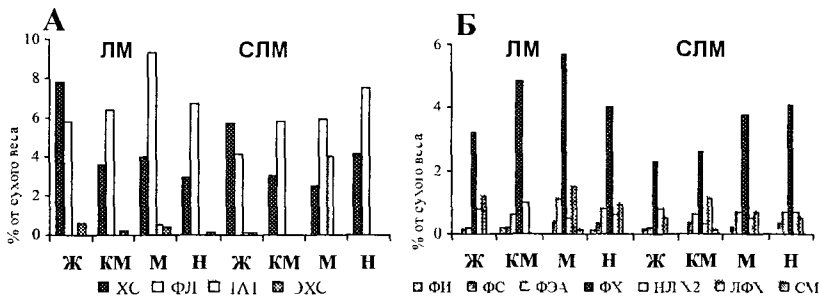


Рис 1 Состав ОЛ (А) и фракций ФЛ (Б) отдельных органов литоральных (ЛМ) и сублиторальных (СЛМ) мидий Белого моря (Ж - жабры, КМ - край мантии, М - мантия, Н - нога)

Анализ липидного состава литоральных и сублиторальных мидий показал наличие тканеспецифичности в распределении липидных компонентов (рис 1, табл 1). Кроме того, заметны различия в липидном составе отдельных органов моллюсков, обусловленные специфическими условиями исходной среды обитания исследуемых мидий (литораль и сублитораль).

3.2 Липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. при влиянии различной солености морской воды

В ходе проведенного исследования было выявлено, что состав липидов литоральных и сублиторальных мидий *Mytilus edulis* подвержен значительным изменениям при влиянии как опреснения (5 и 15‰), так и повышения солености (35 и 45‰) морской воды. Реакция липидного состава *Mytilus edulis* на воздействие различной солености включает количественные модификации мембранных, запасных и регуляторных липидных молекул.

Таблица 1 Распределение доминирующих жирных кислот (ЖК) в отдельных органах литоральных и сублиторальных мидий Белого моря (Ж – жабры, КМ – край мантии, М – мантия, Н – нога)

ЖК	Литоральные мидии				Сублиторальные мидии			
	Ж	КМ	М	Н	Ж	КМ	М	Н
16:0	11,4	16,6	14,8	15,0	11,4	15,9	18,5	17,1
18:0	8,1	2,4	2,5	2,6	5,2	3,8	1,8	1,3
16:1n-7	4,0	2,3	4,6	7,8	3,5	6,1	9,8	4,3
18:1n-9	3,9	5,5	4,4	4,0	3,0	4,3	3,0	4,8
18:1n-7	3,4	2,1	2,2	2,3	1,7	2,7	2,0	3,1
20:1n-9	1,7	4,8	3,4	4,8	1,6	4,0	2,5	4,3
20:1n-7	0,4	0,9	1,1	1,3	0,7	1,1	1,0	1,1
16:4n-3	0,3	6,1	3,0	0,8	3,9	1,0	0,9	5,1
18:3n-3	0,6	0,9	1,6	1,4	0,6	0,8	1,6	0,9
18:4n-3	0,7	1,8	1,7	0,7	1,2	1,3	2,7	1,1
20:5n-3	9,8	9,0	13,4	13,6	13,1	11,6	15,6	10,8
22:6n-3	13,7	12,8	16,3	17,9	15,6	15,7	14,8	14,7
18:2n-6	1,3	1,5	2,3	1,7	0,9	1,8	2,0	2,0
20:4n-6	6,6	5,1	3,5	4,9	5,2	3,7	1,9	3,9
22:2n-6	5,7	3,1	2,4	2,3	7,1	2,9	1,9	2,3
20:2n-9	4,8	4,2	2,7	3,7	3,9	3,9	1,8	3,3
НМРЖК	1,1	1,0	1,5	1,1	1,0	1,1	1,1	1,2

3.2.1 Литоральные мидии

При влиянии различной солёности среды обитания на прибрежных (литоральных) мидий как в целом организме, так и во всех изученных органах (жабры, нога, дистальная и сагиттальная части мантии) были отмечены изменения в содержании структурных липидных компонентов (ХС, ФХ и ФЭА, а также НЖК и ПНЖК), (рис 2, 3)

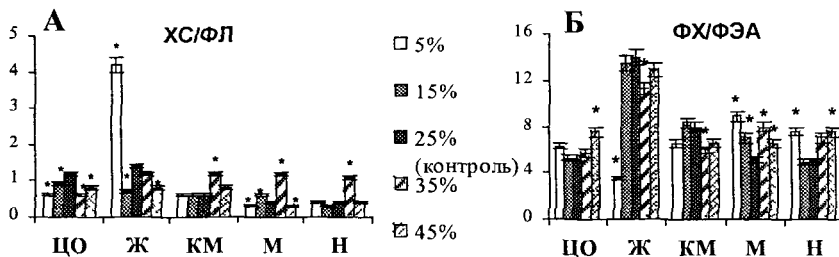


Рис 2 Соотношение ХС/ФЛ (А) и ФХ/ФЭА (Б) у литоральных мидий при влиянии различной солёности (ЦО – целые организмы, Ж – жабры, КМ – край мантии, М – мантия, Н – нога) * - различия достоверны ($p \leq 0.05$) по сравнению с контролем (солёность 25%)

При смене солености морской воды для жабр и мантийной ткани, а также для целых мидий были характерны разнонаправленные колебания запасных липидов (ТАГ, ЭХС и моноеновых кислот). Так, в целом организме и сагиттальной части мантии литоральных мидий опреснение морской воды способствовало снижению количества ТАГ. Наоборот, при повышении солености отмечен рост уровня ТАГ, НЖК (16 0 и 20 0), моноеновых кислот (18 1 и 20 1) и п-3 ПНЖК (16 4, 18 4, 20 5 и 22 6) в жабрах, дистальной части мантии и целых организмах прибрежных моллюсков. Кроме того, в жабрах при 5‰ солености показано повышение концентрации ТАГ, а в сагиттальной части мантии при 35‰ солености – снижение их количества. При влиянии различной солености отмечено понижение содержания ЭХС во всех исследуемых органах, за исключением жабр, а также в целом организме моллюсков при опреснении морской воды до 5 и 15‰. Наоборот, при повышении солености наблюдался рост уровня ЭХС в целом организме литоральных мидий. В результате действия различной солености показаны колебания в концентрациях минорных мембранных липидов ФИ, ФС, СМ и ЛФХ, а

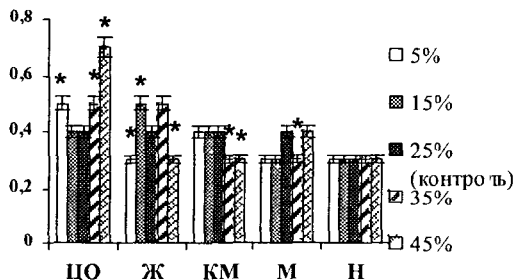


Рис 3 Соотношение НЖК/ПНЖК у литоральных мидий при влиянии различной солености (ЦО – целые организмы, Ж – жабры, КМ – край мантии, М – мантия, Н – нога)
* - различия достоверны ($p \leq 0,05$) при сравнении с контролем (соленость 25‰)

также п-3, п-6, п-9 полиеновых кислот, как в целом организме, так и в отдельных органах мидий. Значительные изменения в содержании ФИ и 20 4п-6 кислоты наблюдались в жабрах и мантийной ткани, причем уровень арахидоновой кислоты изменялся, главным образом, при 5 и 35‰ солености. Содержание 18 2п-6 кислоты снижалось в жабрах, ноге и сагиттальной части мантии при повышении солености до 35 и 45‰. Концентрация СМ подвергалась изменениям при смене солености во всех органах, хотя в ноге только при ее крайних значениях (5 и 45‰). В содержании ФС во всех изученных органах отмечены разнонаправленные колебания как при опреснении, так и при повышении солености. При влиянии всех исследуемых значений солености наблюдалось повышение уровня ЛФХ в целом организме мидий и дистальной части мантии, а также в ноге, но только при опреснении морской воды до 5 и 15‰. Понижение и повышение солености морской воды в жабрах, ноге и целых организмах литоральных мидий вызывало значительные альтерации в количестве 16 1п-7, 18 1п-7, 20 1п-7 и НМРЖК. Причем в жабрах данный эффект наблюдался исключительно при опреснении морской воды, тогда как в целом организме моллюска, при повышенной солености. Содержание олеиновой 18 1п-9 кислоты у литоральных мидий подвергалось изменениям, главным образом, при влиянии критических значений солености (5 и 45‰) в целом организме, жабрах и дистальной части мантии. В ноге уровень данной кислоты изменялся при воздействии всех исследуемых значений солености. При влиянии различной солености концентрация доминирующих п-3 ПНЖК – 20 5 и

22 б снижалась в целом организме и ноге литоральных мидий, а в жабрах и мантии отмечено повышение их количества.

3.2.2 Сублиторальные мидии

При исследовании ответной реакции липидного состава мидий на смену солёности морской воды было установлено, что исходное местообитание моллюсков играет немаловажную роль в характере модификаций состава липидов

Подобно литоральным мидиям, количественные изменения липидных фрак-

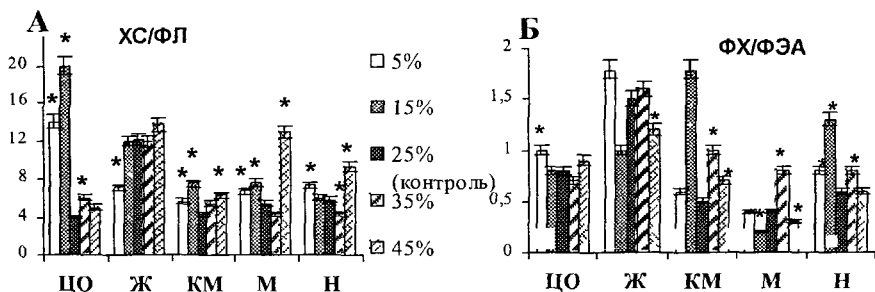


Рис 4 Соотношение XС/ФЛ (А) и ФХ/ФЭА (Б) у сублиторальных мидий при влиянии различной солёности

(ЦО – целые организмы, Ж – жабры, КМ – край мантии, М – мантия, Н – нога)

* – различия достоверны ($p \leq 0,05$) по сравнению с контролем (солёность 25‰)

ций у сублиторальных моллюсков коснулись соотношений XС/ФЛ, ФХ/ФЭА и НЖК/ПНЖК (рис 4, 5) При влиянии всех исследуемых значений солёности уровень ТАГ, моноеновых кислот (16:1, 20:1) и 18:4n-3 значительно снижался в сагитальной части мантии сублиторальных мидий. В жабрах при влиянии критических значений солёности (5 и 45‰) наблюдался рост уровня запасных липидов, тогда как при воздействии 35‰ солёности отмечено их снижение в данном органе мидий. У акклиматизированных к различной солёности моллюсков только в жабрах отмечены значительные изменения в содержании ЭХС: повышение при 5, 15 и 45‰ солёности и снижение при 35‰. В целом организме сублиторальных мидий концентрация данного липидного компонента понижалась при влиянии крайне низкого значения солёности. Также как у прибрежных моллюсков, в липидном составе целых организмов и отдельных органов сублиторальных

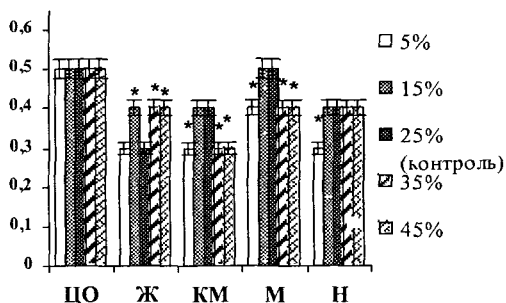


Рис 5 Соотношение НЖК/ПНЖК у сублиторальных мидий при влиянии различной солёности

(ЦО – целые организмы, Ж – жабры, КМ – край мантии, М – мантия, Н – нога)

* – различия достоверны ($p \leq 0,05$) при сравнении с контролем (солёность 25‰)

мидий при влиянии различной солёности были заметны колебания уровня 18 1п-9, 20 4п-6, 18 2п-6, 20 5п-3 и 22 6п-3 кислот и фосфолипидов - ФИ, СМ, ФС и ЛФХ. Во всех изученных органах при влиянии различной солёности, за исключением

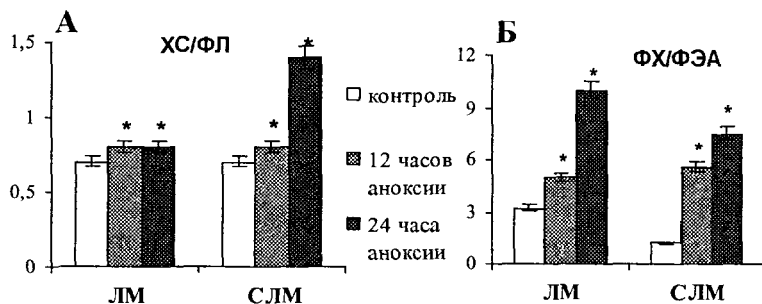


Рис 6 Соотношение ХС/ФЛ (А) и ФХ/ФЭА (Б) у литоральных (ЛМ) и сублиторальных (СЛМ) мидий при влиянии краткосрочной аноксии

*- различия достоверны ($p \leq 0.05$) по сравнению с контролем (аэрируемые условия)

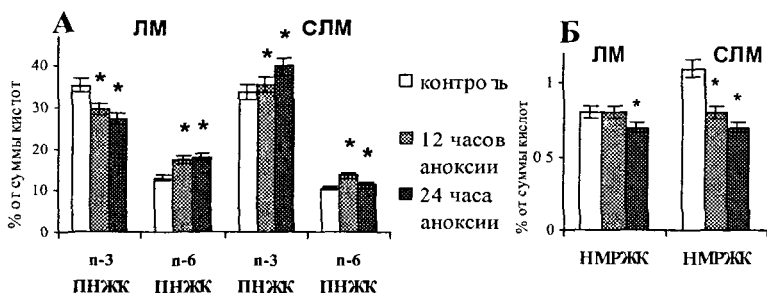


Рис 7 Действие краткосрочной аноксии на содержание п-3 и п-6 ПНЖК (А) и НМРЖК (Б) литоральных (ЛМ) и сублиторальных (СЛМ) мидий

*- различия достоверны ($p \leq 0.05$) по сравнению с контролем (аэрируемые условия)

ноги, уровень ФИ повышался. В некоторых случаях данные изменения сопровождались увеличением концентрации 20 4п-6 кислоты. Уровень 18 2п-6 кислоты изменялся не только при влиянии критических, но и умеренных значений солёности во всех исследуемых органах. Содержание СМ у сублиторальных мидий менялось, главным образом, при опреснении до 5 и 15‰. В ноге увеличение концентрации СМ наблюдалось при повышении солёности до 45‰ солёности. При влиянии всех значений солёности на сублиторальных мидий количество ФС подвергалось разнонаправленным колебаниям, главным образом, в мантийной ткани и жабрах. Повышение уровня ЛФХ отмечено в целых моллюсках и жабрах, тогда как для мантийной ткани мидий характерно пониженное содержание данного фосфолипида при воздействии критической (45‰) и умеренных (15 и 35‰) значений солёности.

Количество НМРЖК не подвергалось значительным изменениям при смене солёности, за исключением жабр (при 45‰ солёности) В тоже время уровень 16 1п-7, 18 1п-7 и 20 1п-7 кислот колебался во всех исследуемых органах при влиянии различной солёности морской воды Концентрация 18 1п-9 кислоты повышалась только в сагиттальной части мантии, исключительно при влиянии сильно опреснённой (5‰) морской воды В содержании 20 5п-3 и 22 6п-3 кислот во всех органах сублиторальных мидий, кроме сагиттальной части мантии, отмечены разнонаправленные изменения, вызванные влиянием различной солёности В жабрах и дистальной части мантии опреснение морской воды (5‰) способствовало росту концентрации 22 6п-3 кислоты, тогда как при повышении солёности (45‰) отмечалось ее падение

3.3 Липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. при анаэробном обмене

При исследовании влияния экспериментальной краткосрочной аноксии (12 и 24 часа) на литоральных и сублиторальных мидий *Mytilus edulis* L. были отмечены изменения в составе липидов

3.3.1 Литоральные мидии

Биохимический ответ на воздействие 12-ти и 24-х часовой аноксии у прибрежных моллюсков характеризовался повышенными соотношениями ХС/ФЛ и ФХ/ФЭА (рис 6А и 6Б) Выявлены колебания в содержании ПНЖК обычного строения (п-3

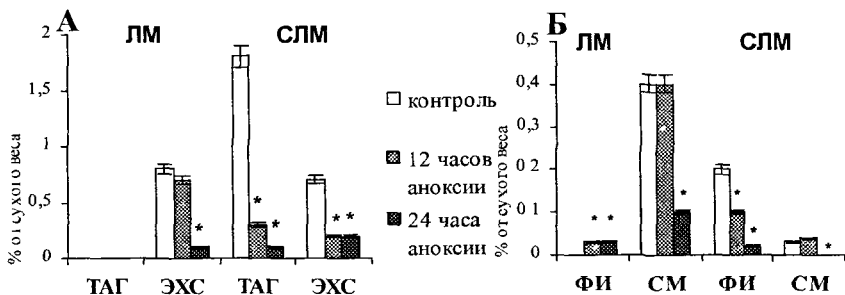


Рис 8 Действие краткосрочной аноксии на содержание запасных липидов - ТАГ и ЭХС (А) и минорных мембранных компонентов - СМ и ФИ (Б) литоральных (ЛМ) и сублиторальных (СМ) мидий

* - различия достоверны ($p \leq 0,05$) по сравнению с контролем (азрируемые у с товия)

и п-6 ряда) и НМРЖК при действии краткосрочной аноксии (рис 7) Уровень запасных липидов (ТАГ и ЭХС) у литоральных мидий под действием экспериментальной аноксии менялся незначительно (рис 8А) Реакция липидного состава на анаэробные условия среды у прибрежных моллюсков включала изменения в концентрации СМ и ФИ (рис 8Б) и ЖК - 18 1п-9, 20 4п-6, 20 5п-3 и 22 6п-3 (рис 9)

3.3.2 Сублиторальные мидии

Изменения липидного состава сублиторальных мидий в ответ на действие краткосрочной аноксии были сходными с таковыми литоральных моллюсков (рис 6, 7), хотя наблюдались некоторые особенности, связанные, по-видимому, с местообитанием животных (рис 8, 9) Так, уровень запасных липидов был значительно выше у сублиторальных особей, и изменения в содержании ТАГ и ЭХС при влиянии аноксии наблюдались, главным образом, у этих моллюсков (рис 8А)

Различия в ответной реакции сублиторальных мидий на действие 12-ти и 24-х часовой аноксии отмечены также в содержании ФИ, n-3 ПНЖК (20:5 и 22:6) и 18:2n-6 кислоты (рис. 8Б, 9).

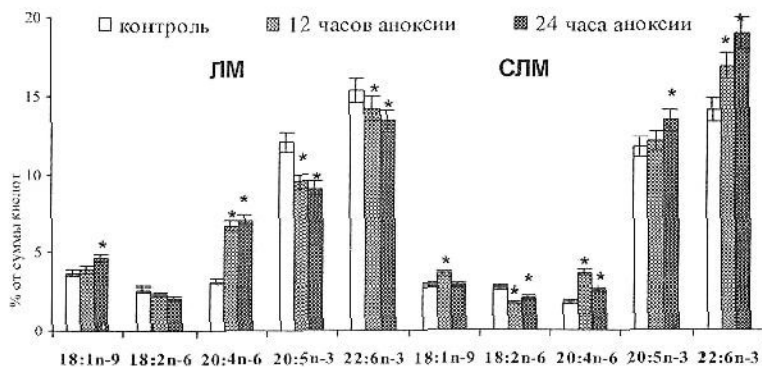


Рис.9. Изменения концентрации некоторых жирных кислот у литоральных (ЛИМ) и сублиторальных (СЛИМ) мидий под действием краткосрочной аноксии

* - различия достоверны ($p \leq 0,05$) по сравнению с контролем (азрируемые условия)

Глава 4. Обсуждение результатов

4.1 Липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря

По результатам проведенных исследований установлено, что липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря существенно не отличается от такового у представителей класса *Bivalvia* (Lubet et al., 1985; Костецкий, 1985; Fouad et al., 1992; Капшин, 1997; Uno et al., 2000; Freitas et al., 2002; Meireles et al., 2003; Saito, 2004; Кашлок и др., 2006). У литоральных и сублиторальных *Mytilus edulis* L. качественный состав липидов одинаков, а их количественный состав органоспецифичен, а также зависит от возраста моллюсков и от исходных мест их обитания.

В ходе сравнительного анализа литоральных и сублиторальных моллюсков Белого моря, для каждой группы мидий выявлены определенные особенности в количественном составе липидов. Литоральные моллюски, которые более уязвимы к воздействию неблагоприятных факторов среды обитания, характеризуются высоким уровнем структурных и регуляторных липидов и жирных кислот (ХС, ФХ, ФЭА, СМ, ФИ и 18:0, 18:1n-9, 18:2n-6 и 20:4n-6). Сублиторальные мидии отличаются повышенным содержанием запасных липидных компонентов (ГАГ и ЭХС), а также n-3 ПНЖК (20:5 и 22:6), 16:1n-7 и 16:0 кислот, что отражает более стабильные и сравнительно благоприятные условия обитания данной группы *Mytilus edulis* (в частности, доступность кормовых объектов).

В прибрежных поселениях *Mytilus edulis* на Белом море в основном обитают половозрелые особи, которые наиболее устойчивы к воздействию экстремальных факторов окружающей среды (температура, соленость, обсыхание). Неполовозрелые (0+ и 1+) мидии характеризуются низкой устойчивостью к действию таких факторов и высокой смертностью в приливно-отливной зоне (Бергер, Луканиц, 1979). Исходя из этого, для изучения возрастных особенностей липидного состава

прибрежных мидий были отобраны типичные представители *Mytilus edulis* (средний возраст 4+ и 8+) литорали Белого моря

Следовые количества запасных липидов (ТАГ и ЭХС) у 8+ литоральных мидий, вероятно, связаны с особенностями их местообитания (о Матренин, губа Чупа, Кандалакшский залив) Показано, что у взрослых *Bivalvia* запасные липиды накапливаются, главным образом, в половых продуктах (Pieters et al., 1980, Pollero et al., 1981, Gabbott, 1983, Davis, Wilson, 1983, Wenne et al., 1987), поэтому их отсутствие у 8+ мидий может свидетельствовать о прекращении репродуктивной функции у этих моллюсков Однако известно, что взрослые *Mytilus edulis* (6-8 лет) производят несоизмеримо больше гамет, чем молодые особи (2-4 года) (Hole et al., 1995) Возможно, наличие следовых количеств запасных липидов у 8+ мидий в преднерестовый период связано с резорбцией половых продуктов, которая вызвана присутствием зеленых водорослей из рода *Nannochloris* в организме *Mytilus edulis*, обитающих на литорали о Матренин Считается, что симбиоз моллюсков и данных водорослей вызывает дегенерацию гонад (Максимович, 1985) и, следовательно, приводит к снижению запасных липидов у прибрежных мидий Накопление 20 5n-3 и 22 6n-3 кислот у 8+ мидий указывает на возможное их участие в поддержании целостности структуры мембран, т.к. они в основном входят в состав фосфолипидов двустворчатых моллюсков (Pazos et al., 1997, Freitas et al., 20026) Показано, что 20 5n-3 кислота может быть предшественником для синтеза эйкозаноидов (простагландинов, лейкотриенов и др.), а 22 6n-3 кислота может выступать в роли источника энергии при экстремальных условиях среды обитания (Freitas et al., 20026, Tocher, 2005) Известно, что моноеновые кислоты 16 1n-7, 18 1n-7 и 20 1n-7 участвуют в биосинтезе метиленразделенных жирных кислот (НМРЖК) Высокий уровень 18 1n-7, 20 1n-7 и НМРЖК у 8+ мидий может свидетельствовать об усиленном метаболизме НМРЖК Благодаря своим структурным особенностям, НМРЖК более устойчивы к воздействию ряда неблагоприятных факторов окружающей среды (Жукова, 1992)

Сублиторальная среда обитания характеризуется относительно стабильным температурным, соленостным и кислородным режимом, по сравнению с прибрежной зоной моря, здесь представлены особи *Mytilus edulis* разных возрастов (Кулаковский, 2000) При исследовании возрастных особенностей липидного состава мидий использовались сублиторальные *Mytilus edulis* в возрасте от 0+ до 6+ лет

У молодых 0+-3+ мидий уровень ХС и ФЛ повышен, по сравнению с моллюсками старших возрастов, что указывает на замедление метаболизма структурных липидов у последних Накопление ТАГ у взрослых мидий может быть вызвано, с одной стороны, замедлением энергетического обмена, а с другой - созреванием половых продуктов и накоплением в них запасных липидов, т.к. известно, что *Mytilus edulis* с двухлетнего возраста становятся половозрелыми (Бергер, Луканин, 1979) У неполовозрелых моллюсков высокий уровень структурных липидов (ФХ, ФЭА, СМ и ХС) очевидно обеспечивает устойчивость мембран к воздействию различных факторов среды Повышенное содержание ЛФХ у 2+-4+ мидий, который, как известно, принимает участие в регуляторных процессах клетки (Oishi et al., 1990, Проказова и др., 1998), вероятно, свидетельствует о его дополнительном синтезе и важной метаболической роли для моллюсков на данной стадии развития У 0+ мидий повышенный уровень ФИ, а также 20 4n-6 кислоты указывает на значимость данных липидов для неполовозрелых моллюсков, т.к. известно, что ФИ и арахидоновая кислота играют важную роль во многих физиологических процессах (Ткачук, 1998, Tocher, 2005, Di Paolo, de Camilli, 2006) Пониженное содержание 20 4n-6 кислоты наряду с высокими концентрациями 18 2n-6 кислоты у 1+-6+

моллюсков указывает на снижение метаболизма арахидоновой кислоты у мидий старшего возраста. Низкий уровень полиеновых кислот п-3 ряда (20 5 и 22 6) у неполовозрелых мидий свидетельствует об использовании данных кислот либо для синтеза эйкозаноидов, либо для получения метаболической энергии. Наряду с п-3 ПНЖК, у морских животных для удовлетворения энергетических нужд используются моноеновые кислоты (Tocher, 2005), поэтому колебания в количестве 16 1n-7, 18 1n-9, 18 1n-7 и 20 1n-9 кислот, а также их изомеров по положению двойной связи, у молодых мидий предполагают их использование в качестве источников энергии.

Жабры и мантия двусторчатых моллюсков наиболее сильно подвержены воздействию различных факторов среды обитания, особенно, для них характерна специфичность в регуляции клеточного объема в ответ на понижение солиности морской воды (Neufeld, Wnght, 1996). В настоящей работе показано, что липидный состав этих органов имеет некоторые особенности. В жабрах литоральных и сублиторальных мидий, по сравнению с остальными органами, доминирование ХС в составе ОЛ, а также повышенное содержание ФХ по отношению к ФЭА свидетельствует об увеличении вязкости липидного бислоя, что, по-видимому, необходимо для поддержания целостности мембран при влиянии неблагоприятных факторов среды обитания. Накопление ТАГ, а также высокое содержание п-3 кислот (18 3, 20 5 и 22 6), которые, как известно, имеют фитопланктонное происхождение, наблюдается исключительно в сагиттальной части мантии мидий, где происходит созревание половых продуктов, а также накопление питательных веществ, необходимых для развития гонад (Pollero et al., 1981). На поверхности мантийной ткани и жабр моллюсков находятся осмо- и натриорецепторы (Бергер, 1986), активность которых зависит от их липидного окружения, поэтому высокий уровень основных и минорных мембранных липидов (ФЭА, ФХ, ФС, ЛФХ и СМ) обеспечивает нормальную работу встроенных в мембрану белков и рецепторов. Для дистальной части мантии и жабр мидий характерно высокое содержание 20 4n-6 и 22 2n-6 кислот, причем в этих органах были отмечены следовые количества ФИ. Вероятно, у мидий 20 4n-6 кислота может содержаться в большом количестве не только во фракции ФИ (Ткачук, 1998, Tocher, 2005), но и во фракции ФХ, что было показано нами у *Mytilus edulis* Белого моря. Повышенный уровень п-6 кислот в жабрах и дистальной части мантии может указывать не только на необходимость этих кислот для синтеза метаболитов с высокой физиологической активностью (эйкозаноидов), но и для придания определенной вязкости мембранам. Известно, что температура плавления п-6 ПНЖК выше, чем у п-3 полиенов, поэтому мембраны, обогащенные п-6 кислотами более стабильны к воздействию неблагоприятных факторов среды (Крепс, 1981, Bell et al., 1986). Нога – это основной мышечный орган двусторчатых моллюсков, который в связи с неподвижным образом жизни мидий в естественной среде обитания не выполняет функцию перемещения, а в основном служит для выделения биссусных нитей. Липидный состав этого органа у мидий характеризуется высокими концентрациями ФХ, ФЭА и ЛФХ, а также повышенным содержанием 16 1n-7, 20 1n-9, 18 2n-6, 20 5n-3 и 22 6n-3 кислот. Во всех исследованных органах литоральных и сублиторальных мидий, за исключением сагиттальной части мантии, отмечен высокий уровень п-9 кислот, которые, как известно, накапливаются в тканях при недостатке незаменимых п-3 и п-6 ПНЖК.

Таким образом, анализ липидного состава литоральных и сублиторальных мидий показал специфичность в распределении липидов по органам, что объясняется характерными функциями исследованных органов у *Mytilus edulis*. Несмотря на

одинаковый состав липидов некоторых органов у изученных мидий, имеется ряд особенностей, связанных со специфическими условиями среды обитания моллюсков (литораль и сублитораль) В отдельных органах сублиторальных мидий заметно выше содержание запасных липидов, а уровень структурных липидов выше у литоральных *Mytilus edulis* Подобное явление было отмечено при сравнительном анализе липидного состава целых организмов мидий из различных местообитаний (литораль и сублитораль)

4.2 Липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. при влиянии различной солености морской воды

В ходе проведенных исследований установлено, что биохимический ответ на уровне липидного состава литоральных и сублиторальных моллюсков на воздействие различной солености среды затрагивает большинство анализируемых липидных фракций Поэтому для создания более полной картины, описывающей реакцию липидного состава мидий *Mytilus edulis* в ответ на смену солености морской воды, необходимо дифференцировать изменения в уровне липидов с позиции выполняемых ими функций структурных, запасных и регуляторных липидных компонентов

Изменения липидных параметров, характеризующих физическое состояние мембран

Липидный состав клеточных мембран значительно изменяется, когда клетка подвергается воздействию стрессовых факторов окружающей среды, таких как температура и соленость Известно, что жидкость мембран (основная характеристика физического состояния мембран) изменяется при колебаниях температуры, а также при увеличении солености окружающей среды (Sinensky, 1974, Loque et al, 2000, Болдырев, 2001, Los, Murata, 2004) Показано, что модификации липидного состава возвращают физическое состояние мембран к тому, которое было до стрессового воздействия (Thompson, 1986, Nechev et al, 2006) Первичными компенсаторными ответами на стресс являются изменения в степени ненасыщенности жирных кислот фосфолипидов, что отражается в колебаниях такого показателя, как соотношение НДЖК/ПНДЖК Количественные модификации основных классов липидов (соотношения ФХ/ФЭА и ХС/ФЛ), развиваются более медленно и представляют собой вторичное регулирование (Thompson, 1986)

Повышенная соленость вызывает уплотнение мембран, подобно действию низких температур (Болдырев, 2001, Los, Murata, 2004), а изменения в их липидном составе направлены на обеспечение более «рыхлой» упаковки бислоя, препятствуя увеличению его вязкости Известно, что уменьшение концентрации ФХ, ХС и НДЖК приводит к снижению вязкости липидного бислоя (Крепс, 1981, Bell et al, 1986, Gillis, Balantyne, 1999а,б, Loque et al, 2000, Hall et al, 2002) В настоящей работе показано, что у литоральных мидий в целом организме, а также в жабрах и мантйной ткани вследствие повышения солености до 35 и 45‰ морской воды происходят модификации липидного состава, направленные, очевидно, на «разжижение» мембран Напротив, у сублиторальных мидий колебания в составе структурных липидов в ответ на повышение солености свидетельствуют об увеличении вязкости клеточных мембран в целых организмах мидий и отдельных органах, за исключением мантйной ткани

Опреснение окружающей среды вызывает разжижение мембран (Los, Murata, 2004), подобно действию высоких температур Следовательно, изменения липидного состава, возникающие при понижении солености, направлены на повышение вязкости бислоя В настоящей работе показано, что у литоральных и сублиторальных мидий при опреснении морской воды до 5 и 15‰ на уровне целого организма

наблюдаются колебания в составе структурных липидов, оказывающие, по-видимому, уплотняющее действие на мембраны. Необходимо подчеркнуть, что ответ целого организма на воздействие различных факторов среды обитания, в том числе на изменение солёности, является интегральным и состоит из совокупного ответа различных органов. В тоже время стратегии реакций клеток каждого отдельного органа на опреснение морской воды отличаются между собой (Neufeld, Wpght, 1996). В настоящей работе при влиянии сильно опреснённой морской воды (5‰) на литоральных мидий в жабрах отмечался повышенный уровень ХС, оказывающий стабилизирующее действие на мембраны. Данный эффект компенсировался высокими концентрациями ПНЖК. Подобное явление наблюдалось у сублиторальных мидий при 5‰ солёности в мангитной ткани и ноге. Вероятно, высокий уровень ПНЖК обеспечивает необходимую вязкость и проницаемость липидного бислоя при критических низких значениях солёности морской воды. В сагитальной части мантии у литоральных мидий опреснение до 15 и 5‰ способствовало росту уровня ФХ и ХС, за исключением 5‰, где отмечено пониженное содержание ХС. У сублиторальных мидий в целом организме и во всех изученных органах, кроме жабр, при опреснении морской воды наблюдались модификации состава липидов, направленные на стабилизацию бислоя: повышение соотношений ХС/ФЛ и ФХ/ФЭА. В жабрах, наоборот, колебания структурных липидов (в частности, ХС и ПНЖК) указывают на снижение вязкости мембран.

Таким образом, установлено, что в результате действия различной солёности морской воды на литоральных и сублиторальных мидий происходят колебания в содержании структурных липидных компонентов, которые, как известно, влияют на фазовое состояние биологических мембран. Считается, что колебания в микровязкости липидного бислоя являются достаточными для активации и развития регуляторных реакций, которые в дальнейшем приводят к акклимации организма (Лось, 2001, Los, Murata, 2004). При смене солёности среды обитания изменения в содержании ХС в мембранах мидий *Mytilus edulis* коррелируют с активностью внутриклеточных Ca^{2+} -зависимых протеиназ (кальпаинов), играющих важную роль в метаболизме клеток, в том числе и регуляции клеточного объема (Кяйвярйянен и др., 2005). В биологические мембраны встроено большое количество белков и рецепторов, активность которых во многом зависит от фазового состояния липидного матрикса. Проницаемость липидного бислоя для ионов, а также активность ионных каналов и насосов (в частности, Na^+/K^+ -АТФазы, $\text{Mg}^{2+}/\text{Na}^+$ -АТФазы) определяется микровязкостью мембран (Крепс, 1981, Еляков, Стоник, 1988), поэтому колебания в составе структурных липидов играют важную роль в процессах акклимации мидий к различной солёности среды обитания. Ответная реакция на уровне мембранных липидов у литоральных и сублиторальных мидий при изменении солёности морской воды направлена на создание оптимальной жидкости биологических мембран, что обеспечивает нормальную работу мембранных белков и рецепторов.

Изменения содержания запасных липидов

Известно, что липиды являются источниками метаболической энергии в организме (Крепс, 1981, Лагин, Шатуновский, 1981, Freitas et al., 20026). У рыб и морских ракообразных при стрессовых воздействиях на организм, в том числе при влиянии различной солёности, изменяется уровень запасных липидов (ТАГ и ЭХС) и некоторых жирных кислот (Bell et al., 1986, Cordier et al., 2002, Luvizotto-Santos et al., 2003, Sangiao-Alvarellos et al., 2005, Martinez-Alvarez et al., 2005). У животных ТАГ преимущественно содержат насыщенные (16 0, 18 0, 20 0) и моноеновые (16 1n-7, 16 1n-5, 18 1n-9, 18 1n-7, 18 1n-5, 20 1n-11, 20 1n-9 и 20 1n-7) кислоты, а также n-3 ПНЖК (16 4, 18 4, 20 5 и 22 6) (Brockerhoff, 1971, Freitas et al.,

2002а, б) *Изменения в количестве запасных липидов, в частности ТАГ, сопровождаются колебаниями в концентрациях этих кислот* В данном исследовании у литоральных и сублиторальных мидий при смене солёности отмечены разнонаправленные изменения на уровне запасных липидов, как в целом организме моллюска, так и в его отдельных органах. При действии критических значений солёности (5 и 45‰) для жабр обеих исследуемых групп мидий, а также при повышении солёности до 35 и 45‰ для дистальной части мантии и целых организмов литоральных мидий характерен рост концентрации ТАГ и соответствующих жирных кислот. Некоторые исследователи связывают повышение уровня запасных липидов, а именно ТАГ, с увеличением количества лизосом и с явлением аутофагии в клетках морских мидий (Hole et al., 1995). Однако в экспериментах по влиянию различной солёности на литоральных и сублиторальных мидий было отмечено незначительное снижение активности фермента – β-глобулидазы (Вьюшская и др., 2005) – маркера лизосом, которые участвуют в процессах аутофагии (Покровский, Крыстев, 1977). Вероятно, в данном случае включаются другие пути увеличения уровня ТАГ в организме мидий или за счёт накопления питательного материала, поступающего из окружающей среды, или благодаря переклещению метаболизма на аккумуляцию запасных липидов. Снижение уровня ТАГ может быть связано с их использованием в качестве источников метаболической энергии, необходимой для акклимации моллюсков к различной солёности морской воды. В настоящей работе падение концентрации ТАГ наблюдалось при опреснении морской воды до 5 и 15‰ в целых организмах и сагиттальной части мантии литоральных мидий, а также при влиянии всех исследуемых значений солёности в сагиттальной части мантии сублиторальных мидий.

Помимо ТАГ к запасным липидам относятся эфиры холестерина (ЭХС). В своем составе ЭХС, наряду с основным структурным компонентом мембран – ХС, содержат ненасыщенные ЖК, которые могут быть источниками метаболической энергии. Изменения в концентрации ЭХС могут указывать на их важную роль в организме моллюсков при изменении условий среды обитания. В настоящей работе показаны разнонаправленные изменения в содержании ЭХС у исследуемых мидий, главным образом у литоральной группы.

Таким образом, изменения в количестве запасных липидов (в основном ТАГ) указывают на повышенные энергетические траты у литоральных и сублиторальных мидий при акклимации к различной солёности. Это заключение согласуется с данными, полученными при изучении углеводного обмена *Mytilus edulis* в подобных экспериментах по влиянию различной солёности (Мещерякова и др., 2003).

Изменения физиологически активных липидов и жирных кислот

Липиды являются важнейшими биологическими эффекторами, регуляторами и медиаторами, участвующими практически во всех важнейших физиологических процессах, происходящих в организме, и в биохимических реакциях, протекающих в клетках животных (Дятловицкая, Безуглов, 1998).

Известно, что ФИ – это минорный компонент клеточных мембран, который играет важную роль в обмене веществ (Гкачук, 1998, Di Paolo, De Camilli, 2006). В настоящем исследовании показано, что в процессе акклимации литоральных и сублиторальных моллюсков к различной солёности морской воды повышается уровень ФИ, главным образом, в жабрах и мантийной ткани. В тканях животных ФИ – это основной источник арахидоновой 20:4n-6 кислоты, которая является метаболическим предшественником для синтеза эйкозаноидов (Гкачук, 1998, Tocher, 2005). Разнонаправленные количественные изменения 20:4n-6 кислоты, отмеченные в данной работе у акклимированных литоральных и сублиторальных

моллюсков, свидетельствуют о ее важной роли в данных органах при изменении условий среды обитания. Некоторыми авторами показан усиленный синтез эйкозаноидов (в частности, простагландинов) у двустворчатых моллюсков в процессе их акклимации к различной солёности морской воды (Freas, Grollman, 1980). Кроме того, ПНДЖК n-6 ряда придают мембранам, содержащим повышенное количество данных кислот в составе фосфолипидов, определенную прочность и устойчивость к воздействию неблагоприятных факторов среды (Крепс, 1981), в том числе изменению солёности. В настоящей работе обнаружено, что не только фракция ФИ, но и фракция ФХ, содержит повышенное количество 20 4n-6, вероятно, данная кислота, необходима моллюскам не только для синтеза эйкозаноидов, но и для стабилизации клеточной мембраны при акклимации к смене солёности морской воды. Биосинтез 20 4n-6 кислоты из алиментарного предшественника – линолевой 18 2n-6 кислоты является основным путем обеспечения ею организма (Крутецкая, Лебедев, 1993). Соотношение 18 2n-6/20 4n-6 отражает уровень превращения линолевой кислоты в арахидоновую, а эффективность этого процесса зависит от количества 18 2n-6 кислоты и от активности участвующих в этом синтезе ферментов. Поэтому изменения в соотношении этих кислот у литоральных и сублиторальных мидий в результате влияния различной солёности могут указывать на уровень метаболизма 20 4n-6 кислоты у *Mytilus edulis*. Так, отмеченные в данном исследовании значительные изменения в соотношении 18 2n-6/20 4n-6, свидетельствующие, главным образом, о повышении синтеза арахидоновой кислоты, наблюдались у акклимированных к различной солёности моллюсков, особенно характерно для сублиторальных мидий. Помимо 20 4n-6 кислоты в метаболизме эйкозаноидов участвуют 20 5n-3 и 22 6n-3 кислоты (Tocher, 2005), уровень которых также был подвержен разнонаправленным изменениям в ходе долгосрочной акклимации мидий к смене солёности. В настоящей работе показано, что полиеновые кислоты n-3 ряда, главным образом 20 5 и 22 6, доминируют в составе жирных кислот общих липидов литоральных и сублиторальных мидий Белого моря. Данные кислоты, кроме участия в синтезе биологически активных веществ, являются структурными компонентами фосфолипидов мембран, а также – источниками метаболической энергии в организме морских моллюсков. Таким образом, в настоящем исследовании невозможно четко определить степень участия данных кислот во всех перечисленных процессах, но разнонаправленные изменения в количестве 20 5n-3 и 22 6n-3 кислот позволяют предположить важную адаптивную роль n-3 ПНДЖК в процессе акклимации моллюсков к различной солёности. Показано, что у рыб 22 6n-3 кислота наряду с другими макромолекулами играет важную роль в адаптационном процессе, в то время как у прикрепленных, малоподвижных беспозвоночных животных функциональным аналогом докозагексаеновой кислоты является ее предшественник – эйкозапентаеновая 20 5n-3 кислота (Шульман, Юнева, 1990).

Известно, что некоторые жирные кислоты не могут синтезироваться в организме животных, и должны поступать с растительной пищей (Bell et al., 1986, Tocher, 2005). Так у морских беспозвоночных, в том числе мидий *Mytilus edulis*, жирные кислоты фитопланктонного происхождения – 18 1n-9, 18 3n-3, 18 2n-6, 20 5n-3 и 22 6n-3 – являются предшественниками синтеза большинства n-3 и n-6 ПНДЖК и биологически активных метаболитов (Zhukova, Aizdaicher, 1995, Хардин и др., 2002, Ramos et al., 2003). Поэтому отмеченные в настоящей работе изменения в концентрациях этих кислот у акклимированных к различной солёности мидий могут быть связаны не только с активным использованием данных кислот в синтезе ПНДЖК n-3 и n-6 ряда и их метаболитов, но и с недостатком питательного мате-

риата и/или с угнетением фильтрации в экспериментальных условиях. В связи с этим необходимо подчеркнуть функциональную значимость п-9 ПНЖК, которые, как известно, включаются в метаболизм жирных кислот только тогда, когда в организме наступает нехватка незаменимых п-3 и п-6 ПНЖК. В настоящей работе отмечено, что при воздействии различной солености морской воды в целых организмах, жабрах и мантийной ткани литоральных мидий уровень п-9 ПНЖК значительно изменялся, когда в их организме был замечен недостаток 18 1п-9, п-3 и п-6 полиеновых кислот

В процессе акклимации литоральных и сублиторальных мидий к различной солености морской воды отмечены разнонаправленные изменения в содержании сфингомиелина (СМ). Данный фосфолипид, наряду с ФХ и ФЭА, является структурным компонентом клеточных мембран и, благодаря особенностям своей структуры, придает прочность липидному бислою при различных неблагоприятных воздействиях. Известно, что уровень СМ в клеточной мембране регулирует биосинтез ХС в клетке (Scheek et al, 1997, Коломийцева и др, 2003). В настоящей работе изменения в концентрации СМ у акклимированных к различной солености моллюсков сг тзаны с колебаниями в уровне ХС и его эфиров. Кроме того, при адаптации моллюсков к различной солености морской воды прослеживались определенные корреляции между уровнем СМ и ФХ, поскольку данные фосфолипиды метаболически связаны между собой. Помимо того что, СМ является структурным компонентом клеточных мембран и регулятором синтеза ХС, большое количество метаболитов биосинтеза СМ участвуют в качестве вторичных мессенджеров во многих клеточных процессах, в том числе при стрессовых воздействиях окружающей среды.

Содержание фосфатидилсерина (ФС) крайне важно для регуляции клеточного объема во время адаптации двусторчатых моллюсков к различной солености среды обитания. Установлено, что помимо пассивного транспорта ионов в регуляции объема клетки морских *Bivalvia* активное участие принимают Na^+/K^+ -АТФ-аза и $\text{Mg}^{2+}/\text{Na}^+$ -АТФ-аза (Borgatti et al, 2003, Pagliaram et al, 2006). Проницаемость клеточной мембраны для ионов, а также активность Na^+/K^+ -АТФ-азы, встроенной в клеточную мембрану, во многом определяется особенностями структурной организации липидного бислоя, особенно присутствием ФС в мембране (Болдырев, 1998). Обнаруженные в настоящей работе изменения в количестве ФС при смене солености у литоральных и сублиторальных мидий, главным образом в жабрах и мантийной ткани, указывают на модификацию активности ферментов, ионных каналов и насосов, а также осмо- и натриорецепторов, встроенных в мембраны и ответственных за регуляцию клеточного объема. Однако активность данных белковых компонентов зависит не только от уровня ФС в мембране, но и от других структурных особенностей липидного бислоя (концентрация ХС и фракций фосфолипидов) (Крепс, 1981, Еляков, Стоник, 1988).

Необходимо отметить, что важным физиологически активным липидом является лизофосфатидилхолин (ЛФХ), роль которого ранее связывали исключительно с патологическими состояниями в клетке (Проказова и др, 1998). В настоящей работе при изучении влияния различной солености на литоральных и сублиторальных мидий не наблюдалось значительных (т.е. патологических) повышений уровня ЛФХ, которые могли бы привести к перестройкам липидного бислоя и его неспецифической проницаемости. В некоторых случаях отмечалось снижение концентрации данного фосфолипида. ЛФХ является промежуточным продуктом синтеза ЭХС (запасная форма ХС), поэтому при действии пониженной и повышенной солености морской воды рост концентрации ЛФХ, вероятно, может быть

связан с удалением избытка ХС из организма мидий. Кроме того, колебания в концентрации ЛФХ у моллюсков при акклимации к смене солёности, очевидно, вызваны важной ролью данного фосфолипида в регуляторных процессах клетки (Праздова и др., 1998, Коломийцева и др., 2003) и его влиянием на активность Na^+/K^+ -АТФазы (Oishi et al., 1990).

В составе липидов морских организмов выявлен целый ряд уникальных компонентов и структурных особенностей, являющихся важнейшими звеньями при адаптации данных организмов к специфической среде обитания (Захарцев и др., 1998). Для морских организмов, в том числе и для мидий *Mytilus edulis*, характерно наличие неметиленразделённых жирных кислот (НМРЖК) в составе липидов. Известно, что присутствие длинных кислот в липидном составе оказывает существенное влияние на структуру и функционирование биологических мембран. Благодаря особенностям своей структуры НМРЖК, в отличие от полиенов обычного строения, имеют более низкую температуру плавления и более высокую устойчивость к окислению, что позволяет им в составе фосфолипидов серьёзно влиять на структуру липидного матрикса (Жукова, 1992, Захарцев и др., 1998). Кроме того, НМРЖК могут синтезироваться *de novo* в организме моллюска (Zhukova, 1986), биосинтетическими предшественниками являются 16 In-7, 18 In-7 и 20 In-7 ЖК (Zhukova, 1986, Жукова, 1992). В результате действия различной солёности морской воды на литоральных мидий отмечены заметные колебания в уровне НМРЖК и их метаболитических предшественников, тогда как у сублиторальных мидий концентрации данных ЖК в меньшей степени подвергались изменениям. Для моллюсков из прибрежной зоны моря характерен более высокий уровень метаболизма НМРЖК, которые благодаря своим особым физическим свойствам предохраняют мембрану от серьёзных повреждений, возникающих при обитании в столь изменчивой среде обитания. В целых организмах и отдельных органах сублиторальных и литоральных мидий при влиянии различной солёности отмечались изменения в составе n-3 и n-6 ПНЖК, происходящие одновременно с колебаниями в концентрации НМРЖК, что указывает на совместное действие полиеновых кислот нормального и необычного строения при акклимации моллюсков к смене солёности. Следует отметить, что проведённый анализ жирнокислотного спектра отдельных фракций фосфолипидов литоральных и сублиторальных мидий подтверждает литературные данные о локализации НМРЖК в составе липидов. Известно, что наибольшее количество НМРЖК содержится в фосфолипидах мембран (Klingensmith, 1982, Жукова, 1992, Захарцев и др., 1998). В настоящем исследовании показано, что у литоральных и сублиторальных мидий *Mytilus edulis* Белого моря НМРЖК в основном локализованы во фракции ФХ, и в меньшем количестве во фракции ФС и ФФА.

Благодаря большому числу разнообразных жирных кислот, характерных для физиологически активных липидов (ФЛ, ФС, ЛФХ, СМ) и жирных кислот (20 In-6, 20 In-3, 22 In-3, 18 In-9 и др.), в настоящей работе невозможно четко обозначить степень участия того или иного липидного компонента в процессе акклимации мидий к различной солёности морской воды. Характер количественных изменений данных липидов в целом организме и отдельных органах литоральных и сублиторальных мидий при влиянии как опреснения, так и повышения солёности морской воды свидетельствует об участии всех исследованных в настоящей работе активных липидных молекул в процессе адаптации моллюсков к различной солёности среды обитания.

Таким образом, в настоящей работе показано, что липидный состав подвергается значительным изменениям при акклимации литоральных и сублиторальных мидий к различной солёности морской воды. Благодаря тому, что липиды участ-

вуют во всех процессах жизнедеятельности организма, они способствуют адаптации моллюсков к такому важному фактору морской среды обитания, как соленость. Необходимо подчеркнуть, что модификации липидного состава, отмеченные у литоральных и сублиторальных мидий в результате действия сильно опресненной морской воды (5‰), не трактовались, как патологические. Хотя в жабрах и сагиттальной части мантии литоральных *Mytilus edulis* были отмечены альтерации состава липидов, характерные только для 5‰ солености. В ходе изучения ответа липидного спектра моллюсков на изменение солености среды обитания установлено, что невозможно четко дифференцировать реакции состава липидов на опреснение и на повышение солености морской воды.

Местообитание моллюсков оказывает существенное влияние на характер компенсаторного ответа липидного состава на смену солености морской воды. Ответная реакция литоральных мидий на уровне липидного спектра на изменение солености морской воды значительно отличается от таковой у сублиторальных моллюсков. Данный факт подтверждает разную адаптивную способность мидий, обитающих в различных условиях окружающей среды. Обитатели прибрежной зоны моря, в том числе *Mytilus edulis*, во время приливно-отливных циклов подвержены частым воздействиям таких неблагоприятных факторов среды, как периодические осушения, сильные перепады температуры и солености, в отличие от сублиторальных животных, которые находятся в относительно стабильных условиях.

Необходимо отметить, что ответная реакция липидного состава на воздействие различной солености морской воды органоспецифична у литоральных и сублиторальных мидий. Жабры и мантийная ткань характеризуются значительными изменениями в содержании большинства липидных фракций при акклимации моллюсков к различной солености. Количественные изменения спектра липидов данных органов отражают компенсаторную реакцию их липидного метаболизма, направленную на регуляцию клеточного объема, а также на стабилизацию функций всех систем клетки в ответ на смену солености среды. Модификации липидного состава, отмеченные в ноге – органе, для которого не известны ответные реакции клеток на изменения солености, также свидетельствуют о возможном участии этого органа в процессе адаптации моллюска к различной солености. Таким образом, результаты исследования по влиянию различной солености на мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря свидетельствуют об адаптивных возможностях клеточного метаболизма на уровне липидного состава.

4.4 Липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. при анаэробном обмене

Переключение метаболизма на анаэробный путь у литоральных моллюсков происходит во время периодических обсыханий, возникающих во время приливно-отливных циклов. Известно, что прибрежные мидии являются типичными представителями факультативных анаэробов, которые выработали комплекс адаптаций, позволяющий им выдерживать длительное отсутствие кислорода (Громосова, Шапиро, 1984, de Zwaan, Putzer, 1985, Хочачка, Сомеро, 1988, Шульман и др., 1993, Fandrey, 1995, Michaelidis et al., 1999, Suchotin, Portner, 2001, Щербань, Вялова, 2001, Wu, 2002, Алякринская, 2004, David et al., 2005). Однако роль липидного состава в адаптивных реакциях моллюсков в ответ на краткосрочную аноксию изучена слабо, а данные, имеющиеся в литературе, достаточно противоречивы (Hole et al., 1995, Hochachka et al., 1996, Васильева, Мещерякова, 2003, David et al., 2005). В настоящей работе показаны компенсаторные изменения в составе липидов литоральных и сублиторальных мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря в ответ на действие экспериментальной краткосрочной (12 и 24 часа) аноксии.

Обнаруженные в настоящем исследовании изменения в содержании структурных липидов (ХС и ФХ) как у литоральных, так и у сублиторальных моллюсков при влиянии 12-ти и 24-х часовой аноксии, как известно, приводят к уплотнению мембран (Еляков, Стоник, 1988, Gillis, Ballantyne, 1999, Loque et al., 2000), и, следовательно, к снижению мембранной проницаемости и изменению активности многих ферментов. Следует отметить, что в некоторых работах, посвященных исследованию влияния аноксии на морских животных, наблюдалось снижение проницаемости мембран (Hochachka et al., 1996). У литоральных и сублиторальных мидий Белого моря высокий уровень ХС и ФХ, в свою очередь, компенсировался повышенным содержанием ПНЖК, которые, как известно, оказывают разжигающее действие на мембраны (Крепс, 1981). В результате действия краткосрочной аноксии на мидий увеличивалась относительная доля п-6 ПНЖК, которые благодаря особенностям своей структуры, придают определенную прочность мембранам (Крепс, 1981, Bell et al., 1986). Помимо ПНЖК обычного строения, важную роль в обеспечении целостности и стабильности липидного бислоя играют НМРЖК, которые, как известно, более устойчивы к окислению (Жукова, 1992, Захарцев и др., 1998). Как уже отмечалось выше, биосинтетическими предшественниками НМРЖК являются 16 1n-7, 18 1n-7 и 20 1n-7 кислоты (Zhukova, 1986, Жукова, 1992), поэтому обнаруженные количественные изменения данных кислот, главным образом, у литоральных мидий, свидетельствуют о повышенном метаболизме НМРЖК в условиях аноксии. Необходимость в кислотах с необычной структурой появляется у исследованных литоральных моллюсков, вероятно, в связи с недостатком п-3 ПНЖК. Подобная обратная зависимость между НМРЖК и п-3 кислотами была ранее отмечена у морских моллюсков и другими авторами (Klingensmith, 1982, Жукова, 1992). Такие изменения в составе жирных кислот способствуют стабилизации мембраны при сохранении необходимого уровня жидкости за счет синтеза *de novo* НМРЖК моллюсками, и в таком случае они не зависят от внешних источников полиеновых кислот (Захарцев и др., 1998). У исследованных сублиторальных мидий изменения в количестве моноеновых кислот и НМРЖК менее выражены, но у них наблюдалось повышенное содержание п-3 полиенов обычного строения, которые, по-видимому, обеспечивают нормальное функционирование мембран при воздействии аноксии.

Ранее было показано, что двусторчатые моллюски в условиях аноксии и гипоксии наряду с углеводами, в качестве энергетического топлива, обычно используют белки, а липиды у них не являются источниками энергии (Шульман и др., 1993, Щербань, Вялова, 2001). Однако некоторые авторы предполагают включение липидов в энергетический обмен мидий *Mytilus edulis* при влиянии краткосрочной гипоксии (Васильева, Мещерякова, 2003). В настоящей работе было отмечено снижение уровня ТАГ и ЭХС, в основном у сублиторальных мидий при влиянии 12-ти и 24-х часовой аноксии. Данные изменения свидетельствуют об использовании запасных липидов для получения метаболической энергии или для синтеза обычных для мидий энергетических субстратов углеводной или белковой природы.

При действии суточной аноксии на литоральных и сублиторальных мидий отмечалось снижение количества СМ, который, как известно, контролирует синтез ХС (Scheek et al., 1997). В настоящей работе у литоральных мидий наряду со снижением концентрации ХС наблюдалось падение уровня СМ. Низкое количество ЛФХ у сублиторальных мидий после влияния 12-ти часовой аноксии, вероятно, связано с мембранно-модулирующим эффектом данного фосфолипида (Проказова и др., 1998). При влиянии 12-ти и 24-х часовой аноксии на литоральных и сублиторальных мидий изменения в количестве ФИ сопровождалось повышением

уровня 20 4n-6 кислоты. Обнаруженные в данном исследовании изменения в коэффициенте 18 2n-6/20 4n-6 у мидий в условиях аноксии свидетельствуют о высоком уровне метаболизма арахидоновой кислоты, которая является источником для синтеза эйкозаноидов (Tocher, 2005). Повышенный уровень данной кислоты, вероятно, способствует выживанию моллюсков в неблагоприятных аноксических условиях. Помимо 20 4n-6 кислоты у литоральных и сублиторальных мидий в результате влияния краткосрочной аноксии увеличивалось количество олеиновой 18 1n-9 кислоты. Данный эффект может быть связан с повышением активности ферментов, ответственных за синтез данной кислоты. Известно, что олеиновая кислота является продуктом деятельности Δ9-десатуразы, экспрессия генов которой у двустворчатых моллюсков усиливается при воздействии гипоксии (David et al., 2005). Высокая концентрация данной кислоты в фосфолипидах мембран влияет на их физические свойства, а метаболиты ПНЖК действуют как сигнальные молекулы. Снижение количества основных кислот линоленового ряда 20 5n-3 и 22 6n-3, отмеченное у литоральных мидий в результате влияния краткосрочной аноксии, видимо, связано с использованием этих кислот или для синтеза эйкозаноидов или на энергетические нужды организма. У сублиторальных мидий, наоборот, повышенные количества 20 5n-3 и 22 6n-3 кислот в аноксических условиях свидетельствуют о возможном их дополнительном синтезе, хотя известно, что данные кислоты имеют фитопланктонное происхождение (Zhukova, Aizdaicher, 1995; Ramos et al., 2003; Saito, 2004). Считается, что у морских прикрепленных беспозвоночных 20 5n-3 кислота играет важную роль в адаптивном процессе (Шульман, Юнева, 1990), тогда как 22 6n-3 кислота используется как источник метаболической энергии и для регуляции жидкостности мембран (Freites et al., 2002).

Таким образом, установлено, что компенсаторная реакция мидий на уровне липидного состава в ответ на анаэробные условия среды обитания имеет схожие черты у литоральных и сублиторальных мидий, хотя были отмечены некоторые характерные особенности в изменениях липидного спектра у мидий из различных местообитаний. Так, например, у литоральных моллюсков отмечены колебания в количестве НМРЖК, обеспечивающие прочную и стабильную структуру липидного бислоя, тогда как у сублиторальных особей изменялся уровень n-3 полиеновых кислот обычного строения. Количество запасных липидов (в частности, ТАГ) изменялось в основном у сублиторальных мидий, которые характеризуются повышенными концентрациями данных липидных компонентов. Отмеченные колебания в составе липидов двустворчатых моллюсков, по-видимому, направлены на поддержание жизнеспособности мидий при воздействии анаэробных условий среды обитания. В большей степени это характерно для литоральных мидий Белого моря.

В ходе изучения липидного состава (ОЛ, ТАГ, ХС, ФЛ и их отдельных фракций, жирнокислотного спектра) мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря установлено, что состав липидов органоспецифичен, определяется исходным местообитанием (литораль и сублитораль) и возрастом моллюсков. При изменении основных факторов среды обитания мидий (солености и аноксии) модификации липидного спектра отражают развитие компенсаторных реакций липидного метаболизма у исследованных морских беспозвоночных.

* Спиксок сокращений: ЛМ – литоральные мидии, СЛМ – сублиторальные мидии, ЦО – целые организмы, Ж – жабры, КМ – край мантии, М – мантия, Н – нога, ОЛ – общие липиды, ФЛ – фосфолипиды, ХС – холестерин, ТАГ – триацилглицерин, ЭХС – эфиры холестерина, ФИ – фосфатидилинозитол, ФС – фосфатидилсерин, ФЭА – фосфатидитаноламин, ФХ – фосфатидилхолин, ЛФХ – лизофосфатидилхолин, СМ – сфингомиелин, ЖК – жирные кислоты, НЖК – насыщенные жирные кислоты, ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты, НМРЖК – неметиленразделенные жирные кислоты.

ВЫВОДЫ:

1 Обнаружены характерные особенности липидного состава мидий *Mytilus edulis* Белого моря из различных местообитаний (литораль и сублитораль). Литоральные моллюски отличаются высоким содержанием структурных липидов, в то время как у сублиторальных особей заметно выше концентрация запасных липидов.

2 Существенных различий в составе липидных компонентов у литоральных моллюсков *Mytilus edulis* разных возрастов не обнаружено, в то время как у сублиторальных мидий были отмечены значительные возрастные различия в липидном спектре.

3 Выявлена органоспецифичность в распределении липидных компонентов у литоральных и сублиторальных мидий, обусловленная, по-видимому, как физиологическими и функциональными особенностями изученных органов у двустворчатых моллюсков, так и исходными условиями обитания моллюсков (литораль или сублитораль).

4 Модификации липидного состава, затрагивающие большинство исследуемых липидных показателей (структурных, запасных и физиологически активных липидов и жирных кислот), при акклимации литоральных и сублиторальных мидий к различной солености морской воды свидетельствуют о наличии компенсаторной реакции на уровне липидного состава *Mytilus edulis*, направленной на адаптацию моллюсков к смене солености среды обитания. Характер изменений липидных компонентов у мидий в ответ на воздействие различной солености зависит от исходных условий местообитания моллюсков (литораль и сублитораль).

5 Реакция липидного состава литоральных и сублиторальных мидий в ответ на смену солености морской воды органоспецифична. Она во многом отражает участие ряда органов, в частности, жабр и мантийной ткани в процессе акклимации целого организма к различной солености морской воды.

6 Изменения липидного состава литоральных и сублиторальных мидий в условиях экспериментальной краткосрочной аноксии связаны с развитием компенсаторного ответа для поддержания жизнеспособности моллюсков. Обнаружены различия в ответной реакции на уровне липидного состава между литоральными и сублиторальными мидиями.

Список опубликованных работ по теме диссертации

- 1 Алексеева Н.Н. Содержание липидов у мидий *Mytilus edulis* L. при разной солености среды // Вестник молодых ученых. №2 2004 с 77-82.
- 2 Alekseeva N.N., Nefedova Z.A., Ruokolainen T.R., Nemova N.N., Bahmet I.N. Role of lipids and fatty acids in the ecologo-biochemical adaptations of White Sea mussels (*Mytilus edulis* L.) // Chemistry and physics of lipids. Abstracts from the FEBS Special Meeting 45th International Conference on the Bioscience of Lipids. v 130 (1) 2004 p 56.
- 3 Алексеева Н.Н. Роль липидов и жирных кислот в биохимических адаптациях мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря и их липидный состав в зависимости от возраста // Мат. 56-й науч. студ. конф. Петрозаводск. 2004 с 201-202.
- 4 Нefeldова З.А., Руоколайнен Т.Р., Алексеева Н.Н., Васильева О.Б., Рипатти П.О., Немова Н.Н., Маркова Л.В., Такашев С.А., Бахмет И.Н. Последствия влияния опреснения воды на липидный и жирнокислотный состав мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря // Тез. докл. междунар. конф. «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» Петрозаводск. 2004 с 99-100.
- 5 Кайвярайнен Е.И., Нefeldова З.А., Бондарева Л.А., Алексеева Н.Н., Бахмет И.Н., Немова Н.Н. Взаимосвязь содержания холестерина в мембранах и активности кальций-активируемых протеиназ мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря при изменении солености среды обитания // Тез. докл. междунар. конф. «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» Петрозаводск. 2004 с 78.
- 6 Алексеева Н.Н. Возрастные изменения липидного состава мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря // Онтогенез т. 36 №5 2005 с 368-369.

* далее фамилия Алексеева изменена на фамилию Фокина в связи с регистрацией брака

- 7 Алексеева Н.Н., Нефедова З.А., Васильева О.Б., Руоколайнен Т.Р., Немова Н.Н. Участие липидов в адаптивном ответе мидий *Mytilus edulis* L. при воздействии солености и гипоксии // Вестник молодых ученых. Сборник материалов всероссийск. конф. молодых исследователей «Физиология и медицина» СПб 2005 с 5
- 8 Нефедова З.А., Руоколайнен Т.Р., Алексеева Н.Н., Васильева О.Б., Рипатти П.О., Немова Н.Н., Маркова Л.В., Ташаев С.А., Бахмет И.Н. Последствия влияния опреснения воды на липидный и жирнокислотный состав мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря // Мат. междунар. конф. «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» Петрозаводск 2005 с 148-154
- 9 Алексеева Н.Н., Нефедова З.А., Васильева О.Б., Рипатти П.О., Немова Н.Н. Изменение жирнокислотного состава мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря при опреснении морской воды и при краткосрочной гипоксии // Мат. IX междунар. конф. «Проблемы изучения, рационального использования и охраны ресурсов Белого моря» Петрозаводск 2005 с 9-13
- 10 Кляйвярайнен Е.И., Нефедова З.А., Бондарева Л.А., Алексеева Н.Н., Немова Н.Н. Коррекция активности кальций-активируемых протеиназ и содержания холестерина в мембранах мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря при изменении солености среды обитания // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины т 140 №10 2005 с 457-460
- 11 Фокина Н.Н., Нефедова З.А., Немова Н.Н. Изменение липидного состава мидий *Mytilus edulis* L. при краткосрочной гипоксии // Мат. междунар. конф. «Северная Европа в XXI веке: природа, культура, экономика» Петрозаводск, 2006 с 129-131
- 12 Фокина Н.Н., Нефедова З.А., Немова Н.Н., Бахмет И.Н. Изменение липидного состава мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря при влиянии нефтепродуктов // Мат. междунар. научной конф. «Проблемы устойчивого функционирования водных и наземных экосистем» Ростов-на-Дону 2006 с 440-442
- 13 Фокина Н.Н., Нефедова З.А., Руоколайнен Т.Р., Немова Н.Н., Бахмет И.Н. Особенности липидного состава мидий *Mytilus edulis* L., 1758, различающихся местобитанием в Белом море // Мат. X научной конф. БС МГУ 2006 с 87-90
- 14 Алексеева Н.Н., Нефедова З.А., Рипатти П.О., Васильева О.Б., Немова Н.Н. Адаптивные изменения липидов и жирных кислот мидий *Mytilus edulis* L. при краткосрочной гипоксии // Тезисы докладов и лекций XIII междунар. совещания и VI школы по эволюционной физиологии. СПб 2006 с 11
- 15 Васильева О.Б., Нефедова З.А., Алексеева Н.Н., Руоколайнен Т.Р., Немова Н.Н., Вселов А.Е. Некоторые липидные показатели мигрирующей молоди чирок *Salmo salar* при адаптации к различным местам обитания // Тезисы докладов и лекций XIII междунар. совещания и VI школы по эволюционной физиологии. СПб 2006 с 45
- 16 Фокина Н.Н., Нефедова З.А., Рипатти П.О., Немова Н.Н. Влияние суточной гипоксии на уровень (n-3) и (n-6) жирных кислот у мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря // Сборник тезисов 10-й Пушкинской школы-конференции молодых ученых. Пуулио 2006 с 98
- 17 Фокина Н.Н., Нефедова З.А., Руоколайнен Т.Р. and Nemova N.N. The role of lipids in the acclimation to salinity in euryhaline mussels *Mytilus edulis* L. in the White Sea // Chemistry and physics of lipids. Abstracts from 47th International Conference on the Bioscience of Lipids, v 143 2006 p 85
- 18 Фокина Н.Н., Нефедова З.А., Немова Н.Н., Бахмет И.Н. Влияние нефтепродуктов на липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. из Белого моря // Мат. IV междунар. научной конф. «Биотехнология - охрана окружающей среды» Москва 2006 с 254-255
- 19 Фокина Н.Н., Нефедова З.А., Руоколайнен Т.Р., Немова Н.Н. Возрастные особенности липидного состава сублиторальных мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря // Мат. междунар. конф. «Современные экологические проблемы севера» Апатиты 2006 с 115-116
- 20 Фокина Н.Н., Нефедова З.А., Немова Н.Н., Халаман В.В. Модулирующая роль липидов и их жирных кислот в адаптивной функции мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря при изменении солености // Журнал эволюционной физиологии и биохимии т 43 2007 с 379-387
- 21 Фокина Н.Н., Нефедова З.А., Руоколайнен Т.Р., Немова Н.Н. Изменения липидного состава целых организмов и некоторых органов мидий *Mytilus edulis* L. при долгосрочной акклимации к пониженной солености // Мат. 2-ой междунар. конф. «Экологические исследования беломорских организмов» БС «Картеш» ЗИН РАН 2007 с 142-143
- 22 Fokina N., Nemova N., Nefedova Z. Fatty acid composition of mussels *Mytilus edulis* under short-term anoxia // Chemistry and physics of lipids Abstracts from 48th International Conference on the Bioscience of Lipids, v 149S 2007 p S60
- 23 Бондарева Л.А., Крупнова М.Ю., Тыщук М.Ю., Фокина Н.Н., Бахмет И.Н. Влияние нефтепродуктов на внутриклеточный протеолиз у беспозвоночных // Мат. 2-ой конф. с участием стран СНГ «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» Петрозаводск 2007 с 23
- 24 Фокина Н.Н., Немова Н.Н., Руоколайнен Т.Р., Нефедова З.А. Липидный состав некоторых органов сублиторальных мидий *Mytilus edulis* L. при акклимации к разной солености среды // Мат. 2-ой конф. с участием стран СНГ «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» Петрозаводск 2007 с 160

Изд лиц № 00041 от 30 08 99 Формат 60×84 $\frac{1}{16}$
Бумага офсетная Гарнитура «Times»
Уч -изд л 1,4 Усл печ л 1,5 Подписано в печать 01 10 07
Тираж 100 экз Изд № 48 Заказ № 683

Карельский научный центр РАН
Редакционно-издательский отдел
185003, Петрозаводск, пр А Невского, 50