

ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ ГЕПАТОПАНКРЕАСА *ASTERIAS RUBENS* L. КАНДАЛАКШСКОГО ЗАЛИВА БЕЛОГО МОРЯ

Н. Н. Фокина¹, Н. В. Лесонен², Т. Р. Руоколайнен¹, З. А. Нефедова¹, О. В. Фомина²,
Г. А. Шкляревич², Н. Н. Немова¹

¹ Учреждение Российской академии наук
Институт биологии Карельского научного центра РАН, г. Петрозаводск, Россия,
e-mail: fokinann@gmail.com

² ГОУ ВПО Петрозаводский государственный университет, г. Петрозаводск, Россия

Введение

Исследования беспозвоночных в Кандалакшском заливе Белого моря вызывают значительный интерес. Морские организмы на различных уровнях организации подвергаются комплексному воздействию факторов окружающей среды. Акватория Кандалакшского залива подвержена влиянию ряда антропогенных факторов (тяжелые металлы, нефтяное загрязнение, бытовые стоки, промышленные отходы), более того, отдельные участки залива значительно отличаются между собой гидрологическими условиями, а также температурно-солевым режимом (Шкляревич, 1999).

Asterias rubens L. является типичным стеногалинным бентосным животным, который не переносит значительного опреснения морской воды. Необходимо отметить, что морская звезда играет важную роль в трофической сети Белого моря, являясь с одной стороны, хищником для двусторчатого моллюска *Mytilus edulis* L. а, с другой – одним из компонентов питания гаги обыкновенной *Somateria mollissima* L. (Фомина, 2010).

Известно, что первичный ответ организма на влияние загрязняющих веществ наблюдается на молекулярном, биохимическом и клеточном уровнях, то есть наступает до появления физиологических и морфологических нарушений (Bertoli et al., 2001). Более того, изменения биохимических показателей отражают состояние обмена веществ и зачастую свидетельствуют о развитии компенсаторного ответа организма на воздействие неблагоприятных факторов, в том числе и загрязняющих веществ (Немова, Высоцкая, 2004). При этом в ответ на стрессовое воз-

действие внешних факторов, в организме изменяется метаболизм липидов, что может отразиться на его липидном составе (Крепс, 1981).

В настоящей работе исследован липидный состав тканей гепатопанкреаса *Asterias rubens* L., обитающих на литорали и верхнем горизонте сублиторали некоторых биотопов Кандалакшского залива Белого моря, различных по гидрологическим условиям, температурно-солевому режиму и антропогенной нагрузке.

Материал и методы

Сбор морских звезд *Asterias rubens* L. осуществлялся на участках литорали и верхней сублиторали различных биотопов охраняемой территории ФГУ «ГПЗ «Кандалакшский» во время отлива. Максимальный диаметр исследуемых животных составлял от 67,0 до 199,4 мм, а радиус – от 32,0 до 99,1 мм. Экстракцию липидов из гепатопанкреаса *Asterias rubens* L. проводили смесью хлороформ/метанол (2:1, по объему) по методу Фолча (Folch et al., 1957). Состав общих липидов, отдельных фракций фосфолипидов и жирнокислотный спектр суммарных липидов анализировали методами тонкослойной, высокоэффективной жидкостной и газожидкостной хроматографией (Сидоров и др., 1972; Engelbrecht et al., 1974; Цыганов, 1971; Arduini et al., 1996). Достоверность различий состава общих липидов и отдельных жирных кислот в гепатопанкреасе морских звезд, обитающих в разных биотопах Кандалакшского залива Белого моря, оценивали многофакторным дисперсионным анализом.

Химический анализ морской воды из разных участков акватории Кандалакшского залива Бе-

лого моря проводила Федеральная служба по экологическому, технологическому и атомному надзору, филиал федерального государственного учреждения «Центр лабораторного анализа и технических измерений по северо-западному федеральному округу» – «Центр лабораторного анализа и технических измерений по Республике Карелия»

Результаты и обсуждение

Проведено исследование состава общих липидов, отдельных фракций фосфолипидов и спектра жирных кислот суммарных липидов в тканях гепатопанкреаса морских звезд *Asterias rubens* L., обитающих в различных биотопах Кандалакшского залива Белого моря (рис. 1). Исследуемые места обитания звезд отличаются между собой не только физико-географическими характеристиками (Шкляревич, 1999), но и содержанием в морской воде различных загрязняющих веществ (в частности, нефтепродуктов и тяжелых металлов) (табл. 1).

Кластерный анализ стандартизованных данных о температурно-солевом режиме исследуемых биотопов Кандалакшского залива Белого моря, а также данных о содержании загрязняющих веществ в морской воде позволил выделить несколько групп (рис. 2).



Рис. 1. Карто-схема района исследования

Таблица 1. Содержание некоторых тяжелых металлов и нефтепродуктов в морской воде (мг/дм³), взятой в исследуемых биотопах Кандалакшского залива Белого моря

Название биотопа	Нефтепродукты	Железо	Медь	Цинк	Марганец	Свинец
Турый мыс	3,00	0,02	0,08	0,00	0,00	0,00
Порья губа	0,56	0,02	0,07	0,00	0,00	0,00
О. Ряшкоч	0,38	0,02	0,07	0,02	0,00	0,00
Воронья губа	0,14	0,02	0,06	0,03	0,00	0,00
О. Олений	0,06	0,02	0,04	0,01	0,00	0,00
ПДК для морских вод	0,05	0,05	0,01	0,05	0,05	0,01

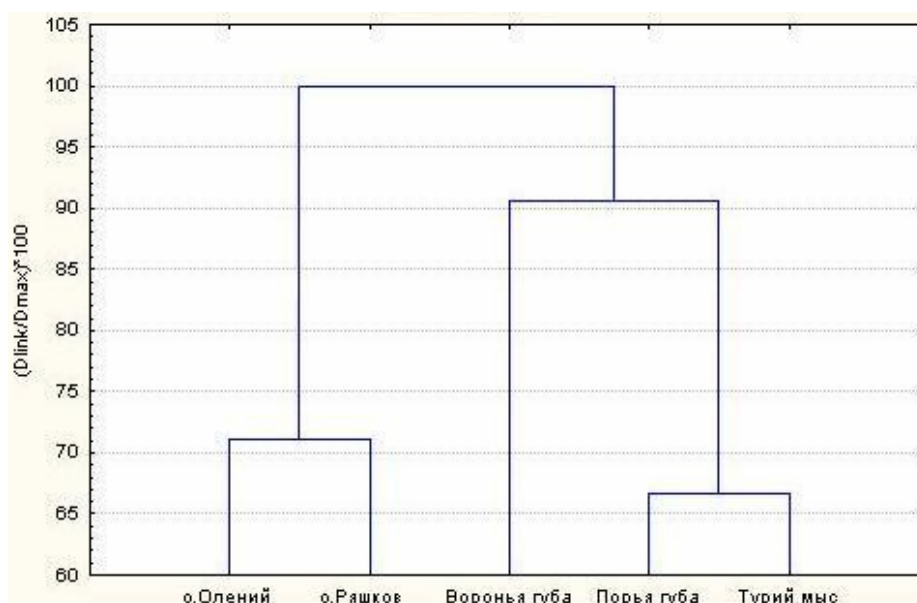


Рис. 2. Дендрограмма различий между исследуемыми местами обитания *Asterias rubens* L. в Кандалакшском заливе Белого моря

В настоящей работе оценивали содержание запасных (в частности, триацилглицеринов и эфиров холестерина) и структурных (а именно, фосфолипидов и холестерина) липидных компонентов, а также жирных кислот суммарных липидов (% от суммы жирных кислот) и отдельных фракций фосфолипидов (% сухой массы) в тканях гепатопанкреаса беломорских *Asterias*

rubens L, в зависимости от условий среды их обитания (рис. 4, рис. 5, табл. 2). Интересно отметить, что статистический анализ стандартизированных данных о содержании общих липидов (структурных и запасных компонентов) морских звезд из исследуемых мест обитаний в Кандалакшском заливе Белого моря позволил объединить их в схожие кластеры (рис. 3).

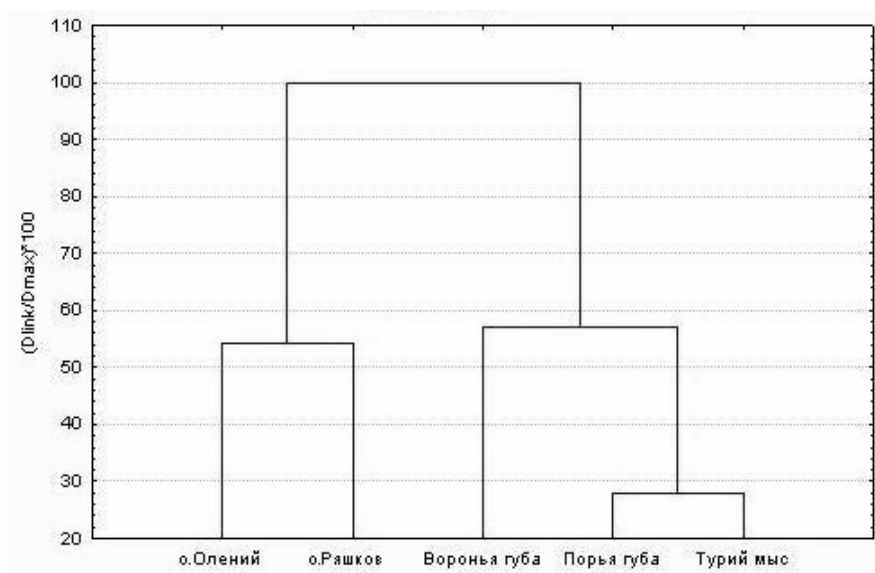


Рис. 3. Дендрограмма различий в составе общих липидов *Asterias rubens* L., обитающих в исследуемых биотопах в Кандалакшском заливе Белого моря

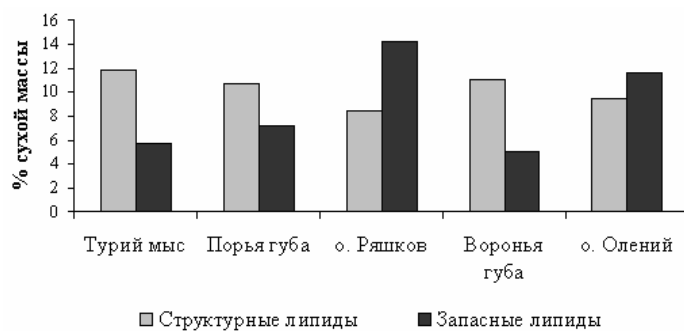


Рис. 4. Содержание структурных и запасных липидных компонентов (% сухой массы) в тканях гепатопанкреаса *Asterias rubens* L., обитающих в различных биотопах Кандалакшского залива Белого моря

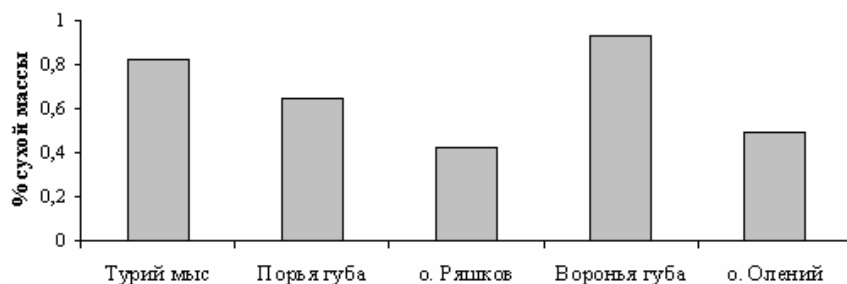


Рис. 5. Содержание фосфатидилинозитола (% сухой массы) в тканях гепатопанкреаса *Asterias rubens* L., обитающих в различных биотопах Кандалакшского залива Белого моря

Таблица 2. Жирнокислотный спектр общих липидов (% от суммы жирных кислот) в тканях гепатопанкреаса *Asterias rubens* L., обитающих в различных биотопах Кандалакшского залива Белого моря

Название биотопа	Σ НЖК	Σ МНЖК	Σ n-3 ПНЖК	Σ n-6 ПНЖК	Σ n-9 ПНЖК	Σ НМРЖК	Σ ПНЖК
Турый мыс	22,72	33,59	20,17	14,88	4,63	2,60	39,68
Порья губа	24,29	31,37	22,65	13,51	4,64	2,00	40,80
О. Ряшков	25,33	42,34	18,14	8,51	2,86	1,13	29,51
Воронья губа	17,30	33,08	27,78	14,35	3,69	1,52	45,82
О. Олений	22,15	38,63	21,69	11,73	3,36	1,27	36,78

Примечание к таблице 2: НЖК – насыщенные жирные кислоты; МНЖК – мононенасыщенные жирные кислоты; ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты; НМРЖК – неметиленразделенные жирные кислоты.

Липидный состав морских звезд, обитающих в биотопах **островов Ряшков и Олений**, достоверно отличается от такового у *Asterias rubens* L. из других исследуемых местообитаний в Кандалакшском заливе Белого моря, главным образом за счет запасных липидных компонентов (триацилглицеринов и эфиров холестерина) (рис. 4). Более того, жирнокислотный состав общих липидов морских звезд из данных островных биотопов характеризуется повышенными концентрациями насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот (табл. 2), которые, как известно, являются основными компонентами триацилглицеринов (Brockenhoff et al., 1968; Brockenhoff, 1971; Крепс, 1981). Отмеченные особенности липидного состава *Asterias rubens* L. указывают на относительно благоприятные условия обитания звезд в данных биотопах. Острова Северного архипелага (в частности, о. Ряшков) характеризуются стабильными гидрологическими условиями с низкой волновой активностью, слабыми течениями и правильными посуточными приливами и отливами (Шкляревич, 1999). Кроме того, для литоральной зоны и участков верхней сублиторали островов Ряшков и Олений характерно обилие основного кормового объекта морской звезды – мидии обыкновенной *Mytilus edulis* L. (Шкляревич, Фомина, 2008). Следовательно, высокие концентрации запасных липидов у *Asterias rubens*, обитающих в данных биотопах, могут свидетельствовать о благоприятных для них кормовых условиях этих мест обитаний. В тоже время, акватория острова Олений подвержена частым воздействиям пресной воды (вблизи острова располагается гидротехническое сооружение). Состав общих липидов и жирных кислот *Asterias rubens* L., обитающих на литорали о. Олений, отличается повышенным содержанием структурных липидов (главным образом, фосфолипидов) и n-6 полиеновых кислот. Показано, что концентрация жирных кислот n-6 ряда, в частности арахидо-

новой кислоты, повышается при воздействии на водные организмы неблагоприятных факторов среды обитания (Тойвонен и др., 2001), в том числе и пониженной солености (Фокина и др., 2010). Липидный состав *Asterias rubens*, обитающих также в относительно спокойных гидрологических условиях в акватории **Вороньей губы**, отличается пониженными значениями запасных липидов и сравнительно высоким содержанием структурных липидных компонентов и полиеновых жирных кислот n-3 семейства. Схожий количественный состав общих липидов наблюдается у морских звезд, обитающих на литорали и верхней сублиторали Порьей губы и Турьего мыса. Биотопы **Порьей губы и Турьего мыса** являются зонами большой прибойности с сильными ветро-волновыми явлениями, в результате которых бентосное сообщество морских организмов, обитающих на литорали и верхней сублиторали, претерпевает более резкие колебания гидрологических условий по сравнению с другими районами Кандалакшского залива Белого моря (Шкляревич, 1999). Кроме того, химический анализ морской воды из районов Порьей губы и Турьего мыса показал повышенное содержание в ней нефтепродуктов и ионов меди (табл. 1). Липидный состав *Asterias rubens* L., обитающих в данных биотопах, отличается повышенными концентрациями структурных липидов, а также полиненасыщенных жирных кислот n-6 и n-9 рядов и жирных кислот с необычной структурой – неметиленразделенных (НМР) кислот. Отмеченные особенности липидного состава морских звезд, обитающих на литорали и в верхней сублиторали Порьей губы и Турьего мыса, отражают воздействие широкого спектра неблагоприятных факторов, характерных для этих мест обитаний. Известно, что НМР жирные кислоты, благодаря особенностям своей химической структуры, обеспечивают стабильность клеточных мембран при различных неблагоприятных воздействиях (Жукова, 1992). В тоже вре-

мья высокий уровень n-6 и n-9 ПНЖК в тканях гепатопанкреаса звезд также свидетельствует о стрессовых условиях обитания *Asterias rubens* (Тойвонен и др., 2001; Saito, 2008; Фокина и др., 2010). Обращает на себя внимание, повышенное содержание фосфатидилинозитола (ФИ) у морских звезд, обитающих на относительно нестабильных участках литорали и верхней сублиторали Вороньей губы, Турьего мыса и Порьей Губы. Эти данные согласуются с повышенными концентрациями n-6 полиеновых кислот у *Asterias rubens* из исследуемых биотопов. Известно, что ФИ – это минорный компонент клеточных мембран, который играет важную роль в обмене веществ. Кроме того, он служит источником n-6 ПНЖК, а именно арахидоновой кислоты, которая является метаболическим предшественником для синтеза эйкозаноидов, активно участвующих в адаптивных процессах орга-

низма к изменяющимся условиям среды обитания (Bell et al., 1986; Ткачук, 1998).

Таким образом, *Asterias rubens* L., обитающие в разных биотопах Кандалакшского залива Белого моря, отличаются содержанием общих липидов, отдельных фракций фосфолипидов и жирных кислот суммарных липидов, что свидетельствуют о возможных эволюционных адаптивных механизмах на уровне липидного состава к столь широкому спектру факторов окружающей среды, характерному для исследуемых мест обитаний.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (08-04-01140а); Программы Президента РФ «Ведущие научные школы» (НШ-3731-2010.4); Программы фундаментальных исследований Президиума РАН на 2009–2011 гг. «Биологическое разнообразие».

Литература

- Жукова Н. В. Неметиленразделенные жирные кислоты морских двустворчатых моллюсков: распределение по тканям и классам липидов // Ж. эволюц. биохим. и физиол. 1992. Т. 28. № 4. С. 434–440.
- Крепс Е. М. Липиды клеточных мембран. Эволюция липидов мозга. Адаптационная функция липидов. Л. 1981. 339 с.
- Немова Н. Н., Высоцкая Р. У. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука. 2004. 215 с.
- Сидоров В. С., Лизенко Е. И., Болгова О. М., Нефедова З. А. // Липиды рыб. 1. Методы анализа. Петрозаводск: КФАН СССР, 1972. С. 150–162.
- Ткачук В. А. Фосфоинозитидный обмен и осцилляция ионов Ca^{2+} (обзор) // Биохимия. 1998. Т. 63. Вып. 1. С. 47–56.
- Тойвонен Л. В., Нефедова З. А., Сидоров В. С., Шарова Ю. Н. Адаптационные изменения в спектрах жирных кислот тканевых липидов сига *Coregonus lavaretus* L. при влиянии антропогенных нагрузок // Прикладная биохимия и микробиология. 2001. Т. 37. № 3. С. 364–368.
- Фокина Н. Н., Нефедова З. А., Немова Н. Н. Липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря. Влияние некоторых факторов среды обитания. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН. 2010. 243 с.
- Фомина О. В. Биология морской звезды *Asterias rubens* L. в экосистемах Белого моря // Автореф. дисс... канд. биол. наук. Петрозаводск. 2010. 24 с.
- Цыганов Э. П. Метод прямого метилирования липидов после ТСХ без элюирования с силикагелем // Лабор. дело. 1971. № 8. С. 490–493.
- Шкляревич Г. А. Водоросли и беспозвоночные животные мелководий Порьей губы // РАН КНЦ. Апатиты. 1999. 70 с.
- Шкляревич Г. А., Фомина О. В. Характеристика некоторых особенностей биологии морской звезды *Asterias rubens* L. на мелководьях Кандалакшского залива Белого моря // Труды Петрозаводского государственного университета. Серия Биология. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ. 2008. Вып. 2.: Вопросы популяционной экологии. С. 248–256.
- Arduini A., Pescechiera A., Dottori S., Sciarroni A.F., Serafini F., Calvani M. High performance liquid chromatography of long-chain acylcarnitine and phospholipids in fatty acid turnover studies // Journal of Lipid Research. 1996. VOL. 37. PP. 684–689.
- Bell M.V., Henderson R.J., Sargent J.R. The role of polyunsaturated fatty acids in fish // Comp Biochem Physiol B. 1986. 83(4). PP. 711–719.
- Bertoli E., Ambrosini A., Zolese G., Gabbianelli R., Fedeli D., Falcioni G. Biomembrane perturbation induced by xenobiotics in model and living system // Cell biol mol lett. 2001. VOL. 6. issue 2A. PP. 334–339.
- Brockerhoff H. Stereospecific analysis of triglycerides. // Lipids. 1971. 6. PP. 942–956.
- Brockerhoff H., Hoyle R.J., Hwang P.C., Litchfield C. Positional distribution of fatty acids in depot triglycerides of aquatic animals. // Lipids. 1968. 3. PP. 24–29.
- Engelbrecht F.M., Mari F., Anderson J.T. // S.A. Med. J. 1974. V 48. № 7. PP. 250–256.
- Folch J., Lees M., Sloan-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids animal tissue (for brain, liver and muscle) // J. Biol. Chem. 1957. V. 226. PP. 497–509.
- Saito H. Unusual novel n-4 polyunsaturated fatty acids in cold-seep mussels (*Bathymodiolus japonicus* and *Bathymodiolus platifrons*), originating from symbiotic methanotrophic bacteria. // J Chromatogr A. 2008. vol. 1200(2). PP. 242–54.

**LIPID COMPOSITION OF HEPATOPANCREAS *ASTERIAS RUBENS* L.
FROM KANDALAKSHA BAY OF THE WHITE SEA**

**N.N. Fokina¹, N.V. Lesonen², T.R. Ruokolainen¹, Z.A. Nefedova¹,
O.V. Fomina², G.A. Shklyarevich², N.N. Nemova¹**

¹ *Institute of Biology, Karelian Research Centre of RAS, Petrozavodsk, Russia*

² *Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia,*

e-mail: fokinann@gmail.com

The lipid, phospholipids and fatty acid composition of starfish *Asterias rubens* L. from different habitats of Kandalaksha Bay of the White Sea were analyzed. These habitats of starfishes differ on hydrological conditions, temperature and salt regime and anthropogenic pressure. High concentrations of reserve lipids (such as triacylglycerols and cholesterol esters) in *Asterias rubens*, living in relatively comfortable sites of Islands Ryashkov and Olenii, indicate favorable conditions for them. Reported features of the lipid composition

of starfish inhabiting in the intertidal and upper subtidal zones of Porey inlet and Turii Cape, reflect the impact of a wide range of adverse factors typical for these habitats. Thus, *Asterias rubens* L., living in different regions of the Kandalaksha Bay of the White Sea, differ in lipid, phospholipids and fatty acids contents, indicating a possible evolutionary adaptive mechanisms at the lipid composition level to a wide range of environmental factors (vary hydrological conditions, temperature and salt regime, and anthropogenic pressure etc).