

ЛИПИДНЫЙ ПРОФИЛЬ МОЛЛЮСКОВ *Lymnaea stagnalis* (Mollusca: Gastropoda) В ОЗЕРАХ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

© 2024 г. Р. А. Михайлов^{a, b, *}, В. Н. Нестеров^a, А. В. Рахуба^a

^aСамарский федеральный исследовательский центр Российской академии наук,
Институт экологии Волжского бассейна Российской академии наук, Тольятти, Россия

^bИнститут биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук,
пос. Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл., Россия

*e-mail: roman_mihaylov_1987@mail.ru

Поступила в редакцию 29.10.2022 г.

После доработки 19.10.2023 г.

Принята к публикации 23.10.2023 г.

Исследована взаимосвязь между экологическими условиями водоемов с разной степенью антропогенного воздействия и составом общих липидов и жирных кислот (ЖК) отдельных органов и тканей (печень и нога) и целой особи моллюсков *Lymnaea stagnalis*. Расположенное в черте города озеро подвержено различным видам загрязнения, озеро в пределах особо охраняемой природной территории можно охарактеризовать как чистое. В зависимости от экологических условий в озерах меняется состав и содержание общих липидов и ЖК моллюсков. Наибольшее их количество отмечено в пищеварительной железе. В органах и тканях моллюсков доминирующие липиды в исследованных озерах — фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин, а в составе ЖК преобладают полиненасыщенные кислоты. Установлено, что изменение профиля липидов и ЖК *L. stagnalis* происходит при воздействии органических соединений и тяжелых металлов.

Ключевые слова: озера, моллюски, антропогенное загрязнение, экологические факторы, адаптация, липиды, жирные кислоты

DOI: 10.31857/S0320965224020049 **EDN:** xttthn

ВВЕДЕНИЕ

Одним из наиболее распространенных представителей класса Gastropoda является вид *Lymnaea stagnalis* (L., 1758) (Vinarski, Kantor, 2016). Этот эврибионтный моллюск обитает в различных условиях, в том числе, с разной степенью антропогенного загрязнения (Guerlet et al., 2006), благодаря чему используется как биологический индикатор сапробности воды, точечных источников загрязнения водоемов и др. (Хохуткин и др., 2009; Fortunato, 2015).

Антропогенное загрязнение континентальных водоемов ТМ, органическими соединени-

ями и прочими требует от организма частных ответных реакций (Смирнов, Богдан, 2007). В настоящее время все более очевидно, что мембраны и их липидный состав — важные компоненты адаптивной реакции многих организмов, включая моллюсков. Клеточная мембрана одна из первых подвергается негативному воздействию условий внешней среды и трансформации, проходящие в структурной организации липидного бислоя, в дальнейшем приводят к адаптации организма к воздействию факторам среды (Los, Murata, 2004; Lopez et al., 2006).

Сокращения: ДАГ — диацилглицерины, ДФГ — дифосфатидилглицерины, ЖК — жирные кислоты, К — свободные жирные кислоты, ЛФХ — лизоформы фосфатидилхолина, МНЖК — мононенасыщенные жирные кислоты, НЛ — нейтральные липиды, НЖК — насыщенные жирные кислоты, ООПТ — особо охраняемая природная территория, ПДК — предельно допустимая концентрация, ПНЖК — полиненасыщенные жирные кислоты, ТАГ — триацилглицерины, ТМ — тяжелые металлы, УКИЗВ — удельно комбинаторный индекс загрязненности воды,

ФИ — фосфатидилинозиты, ФК — фосфатидные кислоты, ФЛ — фосфолипиды, ФС — фосфатидилсерины, ФХ — фосфатидилхолины, ФЭ — фосфатидилэтаноламин, ХОЛ — холестерин, С16:0 — пальмитиновая ЖК, С16:1 — пальмитолеиновая ЖК, С18:0 — стеариновая ЖК, С18:1n9c — олеиновая ЖК, С 20:1 — эйкозеновая ЖК, С20:3n3c — эйкозатриеновая ЖК, С20:4n6 — арахидоновая ЖК, С20:5n3 — эйкозопентаеновая ЖК, С24:0 — лигноцерининовая ЖК, ANOVA — дисперсионный анализ, RDA — дискриминантный анализ, X — неизвестные соединения.

Брюхоногие пресноводные моллюски в отличие от двустворчатых реже выступают как объекты исследования при изучении механизмов адаптаций на различных уровнях биологической организации к воздействию факторов среды обитания (Cossu et al., 2000; Chan, Wang, 2018; Fadhlaoui, Lavoie, 2021 и др.). В отношении липидного профиля моллюска *L. stagnalis* имеются сведения в основном об их содержании у других видов малакофауны (Dembitsky et al., 1992; Dembitsky et al., 1993; Чеботарева и др., 2011).

Для анализа липидного состава у моллюсков часто, кроме тела, используют ногу и печень, обладающих высокими уровнями обмена и антиоксидантной защиты (Головина и др., 2016). Липидный и жирно-кислотный профиль *L. stagnalis* в бассейне р. Волги представлены лишь работами, направленными на их обнаружение и классификацию в теле моллюска (Dembitsky et al., 1992; Dembitsky et al., 1993). Сведения о долгосрочных воздействиях загрязняющих веществ на содержание отдельных липидных компонентов в тканях и органах пресноводного моллюска *L. stagnalis* в бассейне реки отсутствуют.

Цель работы — исследовать содержание липидного состава и жирных кислот в целой особи, отдельных органах и тканях моллюска *L. stagnalis*, обитающего в озерах с разной степенью антропогенного загрязнения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования был легочный моллюск *L. stagnalis*. Особей вида собирали в июле 2021 г. в озерах, расположенных в условно чистом районе (оз. Солдатское) и в подверженном промышленно-коммунальному и сельскохозяйственному загрязнению на территории бассейна Нижней Волги (оз. Большое Васильевское).

Озеро Солдатское — пойменный водоем (53°17.68' с.ш., 49°42.22' в.д.), расположен вдоль р. Волги рядом с с. Мордово на территории ООПТ Национального парка «Самарская Лука». Водоем имеет старичное происхождение. Берега озера задернованные без заметных следов размывания.

По морфометрическим параметрам относится к малым водоемам (табл. 1). Питание озера осуществляется в основном за счет атмосферных осадков (Голубая..., 2007).

Озеро Большое Васильевское входит в систему Васильевских озер (53°54.40' с.ш., 49°53.22' в.д.), расположенных на северо-восточной границе г. Тольятти (Самарская обл.), в нижней части долины бывшей р. Пискалы, впадавшей в р. Волгу. Относится к категории малых водоемов (табл. 1). Питание осуществляется за счет подземных вод и атмосферных осадков (Протисты..., 2009).

Пробы отбирали с помощью гидробиологического скребка (длина ножа 0.2 м) и количественной рамки (1 м²). Дополнительно визуально осматривали биотопы, и замеченных улиток собирали вручную. Собранные материалы доставляли в лабораторию в естественной воде. Всего было собрано 36 особей одной размерной группы (масса 5.25–7.25 г, высота раковин 45–53 мм).

Одновременно со сбором моллюсков на каждом озере с помощью аналитических приборов определяли водородный показатель и температуру воды (рН-метр с термометром HANNA HI 98127), концентрацию растворенного в воде кислорода (оксиметр HANNA HI9146). Непосредственно в местах сбора улиток отбирали образцы воды батометром емкостью 4 л с поверхности (0.5 м). Гидрохимический анализ отобранных проб выполняли в лаборатории Мониторинга водных объектов Института экологии Волжского бассейна РАН, филиала Самарского научного центра РАН. Содержание гидрохимических показателей определяли согласно методикам, изложенным в работе (Руководство..., 2003); концентрации растворенного в воде азота нитратного, нитритного и аммонийного, фосфора общего, кремния, а также и цветность воды — фотометрическим методом на спектрофотометре СФ-2000. Содержание железа общего, цинка и меди вычисляли с помощью атомно-абсорбционного спектрометра с электрической атомизацией «МГА-915М». Перманганатную окисляемость, концентрацию хлоридов, магния, кальция и жесткость воды устанавливали титриметрическим методом.

Таблица 1. Основные морфометрические показатели исследованных озер

Параметр	оз. Солдатское	оз. Б. Васильевское
Длина, км	1.07	2.26
Наибольшая ширина, км	0.16	0.4
Средняя ширина, км	0.13	0.29
Длина береговой линии, км	2.3	10.4
Площадь, км ²	0.14	0.66
Максимальная глубина, м	2.9	3.3
Средняя глубина, м	1.7	1.6

Мутность воды определяли гравиметрическим методом при фильтровании взвешенных веществ, сухой остаток — гравиметрическим методом при выпаривании аликвотной части отфильтрованной пробы воды.

Все процедуры обработки биологического материала проводили в лабораторных условиях на холоде (4–6°C). Для исследования использовали печень и ногу, а также целое тело моллюска в трех повторностях. Отдельные органы собранных с одного озера животных объединяли в группы и разделяли так, чтобы масса анализируемых тканей в каждой пробе была ≥ 2 г. Образцы отпрепарированных тканей фиксировали в 5 мл смеси метанола и хлороформа (1:1) и хранили в холодильнике (4–6°C) до анализа.

Липиды экстрагировали смесью хлороформа и метанола (1:2) с одновременным механическим разрушением тканей (Кейтс, 1975). Разделение липидов на фракции фосфолипидов и нейтральных липидов осуществляли методом тонкослойной хроматографии. Количество мембранных фосфолипидов и нейтральных липидов определяли с помощью денситометра “Денскан-04” (“Ленхром”, Россия), а также спектрофотометрическим методом по В.Е. Васьковскому (Vaskovsky, Latyshev, 1975).

Для анализа жирно-кислотного состава из аликвотной части липидов получали метиловые эфиры жирных кислот путем кипячения в 5%-ном растворе HCl в метаноле. Полученные эфиры анализировали на хроматографе “Кристалл 5000.1” (“Хроматэк”, Россия) в изотермическом режиме с использованием капиллярной колонки длиной 105 м и диаметром 0.25 мм RESTEK (США). Температура колонки — 180°C, испарителя и детектора — 260°C, скорость тока газа-носителя (гелий) — 2 мл/мин. Идентификацию метиловых эфиров жирных кислот проводили по времени удерживания с помощью стандарта 37 ComP. FAME Mix (“Supelco”, USA).

Каждый компонент в пробе анализировали трижды. На рисунках и в таблицах результаты представлены в виде средних значений параметра и их стандартных ошибок. Расчеты выполняли, используя программы Statistica v.10.0, Microsoft Excel 2010. Уровень достоверности различий оценивали при помощи дисперсионного анализа (ANOVA). Взаимосвязи липидов моллюска в градиенте абиотических факторов среды оценивали с применением регуляризованного дискриминантного анализа (RDA), силу связи липидов вида с факторами среды — с помощью перестановочного теста Монте-Карло. Математическую обработку выполняли с использованием статистической среды R v.4.0.5 и ее пакета vegan.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гидрохимические показатели исследованных озер представлены в табл. 2. Проведенная оценка качества воды в оз. Солдатское, расположенного в экологически благополучном месте (ООПТ), позволила установить, что в водоеме отсутствует превышение ПДК, принятых для водных объектов рыбохозяйственного назначения (Методические..., 2002). Качество воды по УКИЗВ относится к условно чистым водам.

Гидрохимический фон оз. Большое Васильевское формируется за счет расположенных вокруг него химических предприятий и садово-огородных товариществ. В результате интенсивной хозяйственной деятельности экологические и рекреационные функции озера почти утрачены, и качество воды по УКИЗВ характеризуется как грязное (табл. 2). Превышение ПДК в воде оз. Большое Васильевское имели следующие показатели: перманганатная окисляемость (6 ПДК), медь (7.7), цинк (6.3), магний (2.5). В оз. Солдатское наблюдается высокая плотность макрофитов, занимающих до 50% площади водоема, их высокое видовое разнообразие представляют 12 видов. Однако в оз. Большое Васильевское площадь высшей водной растительности составляет 5%, и имеются только два вида макрофитов.

В малакофауне оз. Солдатское зарегистрировано 34 вида моллюсков, относящихся к двум классам (Bivalvia, Gastropoda), в оз. Б. Васильевское отмечено лишь пять таксонов из одного класса — брюхоногие (Gastropoda). Количественные показатели моллюсков в озерах существенно различались. Так, в оз. Солдатское плотность малакофауны составляла 191 экз./м², биомасса 156.49 г/м², в Большое Васильевское — 6 экз./м² и 11.61 г/м² соответственно. Плотность *L. stagnalis* имела схожую тенденцию, — большие плотность (14 экз./м²) и биомасса (58.26 г/м²) в оз. Солдатское по сравнению с оз. Большое Васильевское (1 экз./м² и 6.25 г/м² соответственно).

Анализ липидов тела, органов и тканей *L. stagnalis* позволил обнаружить ФЛ, НЛ и ряд Х. В целом моллюске и печени идентифицированы следующие компоненты ФЛ: ФХ, ФЭ, ФИ, ФС, ФК, ЛФХ, ДФГ. НЛ у *L. stagnalis* служат ХОЛ, ТАГ и К. ХОЛ и ФЛ относятся к структурным компонентам биологических мембран, обеспечивая целостность и стабильность бислоя (Фокина и др., 2010). Состав липидов в ноге имел идентичный набор ФЛ, среди НЛ найден только ХОЛ. Согласно количественному содержанию липидов в моллюске, выявлено преобладание ФЛ над НЛ в среднем в 11.8 раз, с большей разницей в ноге.

В теле моллюска из оз. Большое Васильевское было выявлено повышенное содержание (в 2 раза) ТАГ и К по сравнению с моллюсками из оз. Солдатское (рис. 1а). Концентрация этих двух типов липидов отражает метаболические

Таблица 2. Некоторые физико-химические характеристики вод исследуемых озер

Показатель	оз. Солдатское	оз. Б. Васильевское
Температура, °С	28 ± 0.1	28 ± 0.1
Водородный показатель	8.5 ± 0.1	10.4 ± 0.1
Растворенный кислород, мг/л	9.9 ± 0.32	10.2 ± 0.33
Окислительно-восстановительный Потенциал (Eh), мВ	220 ± 15	142 ± 15
Мутность, мг/л	4.4	11
Цветность, °Pt	37.1 ± 4.1	85.7 ± 5.6
Перманганатная окисляемость (П/О), мг/л	10.7 ± 0.86	30.8 ± 2.46
Сухой остаток, мг/л	420 ± 37.8	353 ± 31.8
Жесткость, ммоль/л	5.4 ± 0.34	2.44 ± 0.13
Кальций, мг/л	66.13 ± 4.37	12.83 ± 1.01
Магний, мг/л	25.5 ± 2.34	89.9 ± 20.7
Хлориды, мг/л	98.2 ± 1.7	55.5 ± 3.07
Азот нитритный, мг N/л	0.003 ± 0	0.002 ± 0
Азот нитратный, мг N/л	0.02 ± 0	0.09 ± 0
Азот аммонийный, мг N/л	0.33 ± 0.12	1.22 ± 0.26
Фосфор общий, мг/л	0.034 ± 0.006	0.085 ± 0.008
Кремний, мг/л	4.08 ± 0.43	0.24 ± 0
Железо общее, мг/л	0.072 ± 0.012	0.15 ± 0.02
Цинк, мг/л	0.003 ± 0	0.063 ± 0.007
Медь, мг/л	0.00069 ± 0	0.0077 ± 0
Хлорофилл <i>a</i> , мкг/л	28.5 ± 2.68	146.6 ± 14.66

Примечание. Даны абсолютные значения и их стандартные ошибки.

особенности организма, связанные с синтезом и распадом липидов. В отношении остальных липидов существенных различий между *L. stagnalis* из двух озер не обнаружено.

В печени *L. stagnalis* содержалось вдвое больше липидов (из расчета на 1 г сырой массы ткани), чем в ноге и теле (рис. 1б). В печени моллюсков из оз. Солдатское количество мембранных липидов ФХ, ФЭ, ФИ было на 15–43% меньше, чем у особей из оз. Большое Васильевское. Зарегистрировано одинаковое содержание ТАГ, ДАГ и ХОЛ у моллюсков из обоих местообитаний, однако у особей из оз. Солдатское уровень К был в 8 раз выше, чем из оз. Большое Васильевское.

В ноге *L. stagnalis* из оз. Солдатское из липидов преобладал ФЭ, в оз. Большое Васильевское — ФХ в количестве по 1.1 мг/г сырой массы (рис. 1в). Соотношение ФХ/ФЭ в первом случае было 0.9, во втором — 1.2. Кроме того, в ноге особей из оз. Солдатское содержалось на 33% больше ЛФХ, чем из оз. Большое Васильевское.

В ходе анализа липидов *L. stagnalis* идентифицированы 25 ЖК и установлено наличие нескольких X кислот (табл. 3). Из НЖК доминировали пальмитиновая (С16:0) и стеариновая (С18:0) кислоты. На их долю в среднем приходилось от 7

до 15% Σ(суммы) ЖК. В отличие от целого моллюска и печени, в ноге зарегистрировано высокое содержание лигноцереновой кислоты (С24:0) (>8% ΣЖК). В ноге и печени моллюсков из оз. Солдатское отмечено высокое содержание С16:0, С17:0 и С18:0, в отличие от ноги, где большинство концентраций близки в процентном отношении.

В составе МНЖК преобладали олеиновая (С18:1n7c) и эйкозеновая (20:1) кислоты (табл. 3). Их уровень в теле моллюска варьировал от 4 до 8% ΣЖК. В печени зарегистрировано высокое содержание пальмитолеиновой кислоты (С16:1) (4% ΣЖК). В целом моллюске из оз. Солдатское можно выделить высокое содержание С18:1n9c, С20:1, С24:1; в печени — С18:1n9c; в ноге — С16:1, С20:1.

Основными ПНЖК в моллюсках были эйкозатриеновая (С20:3n3c) и эйкозопентаеновая (С20:5n3) кислоты, достигающие 45–54% ΣПНЖК (табл. 3). Концентрация ПНЖК у особей из оз. Большое Васильевское превышала таковую в оз. Солдатское на 2–5%. Большие значения для целой особи и органов моллюска были выявлены в оз. Большое Васильевское только для С20:3n3c. Здесь отмечено высокое содержание С18:2n6c и С18:3n3 в печени и ноге *L. stagnalis*. Для оз. Солдатское характерно высокое значение С20:5n3 в теле особей.

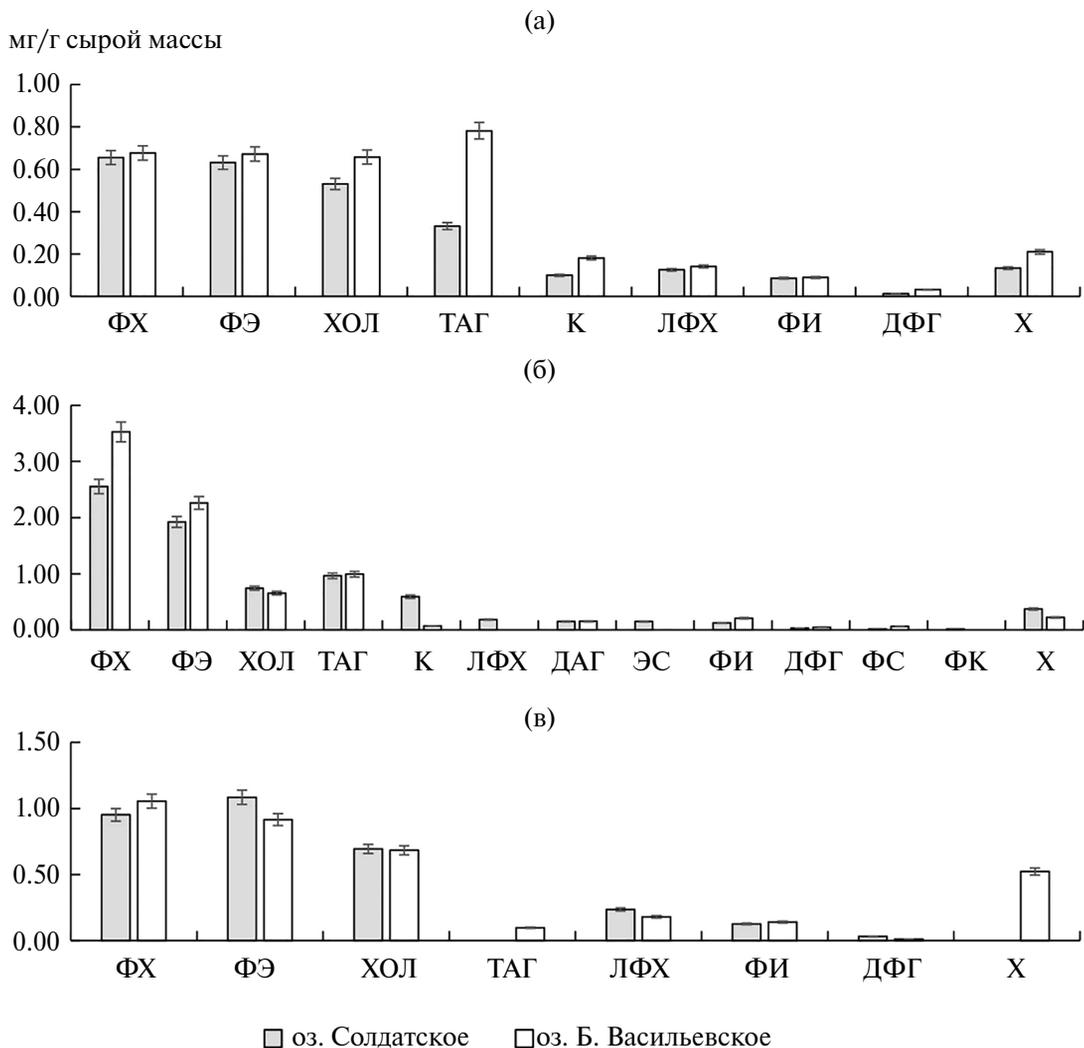


Рис. 1. Содержание и состав липидов в целом моллюске *Lymnaea stagnalis* (а), его печени (б) и ноге (в). ДАГ — диацилглицерины, ДФГ — дифосфатидилглицерины, К — кислоты, ЛФХ — лизоформы фосфатидилхолина, ТАГ — триацилглицерины, ФИ — фосфатидилинозиты, ФК — фосфатидные кислоты, ФС — фосфатидилсерины, ФХ — фосфатидилхолины, ФЭ — фосфатидилэтаноламины, Х — неизвестные соединения, ХОЛ — холестерины, ЭС — эфиры стерина.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Согласно полученным данным, в схожих по происхождению и размерам озерах существенно различается качество воды по содержанию органических соединений и тяжелых металлов, что, по-видимому, приводит к нарушению биологического равновесия и подавлению процесса биологического самоочищения и самообеззараживания озера Большое Васильевское. Возможное влияние загрязнения на малакофауну оз. Большое Васильевское проявляется уже при анализе видового богатства в исследованных водоемах. Число видов моллюсков, найденных в оз. Солдатское, в 7 раз превышает таковое в оз. Большое Васильевское, а показатели численности и биомассы превосходят в 30 раз. Аналогичная картина отмечена для вида *L. stagnalis*. Количество найденных

особей и его биомасса в 14 раз выше в оз. Солдатское. Следовательно, данное антропогенное воздействие может быть одной из причин сокращения разнообразия малакофауны и элиминации популяций *L. stagnalis*. Однако нахождение этого моллюска в загрязненном водоеме подтверждает факт довольно высокой устойчивости *L. stagnalis* к поллютантам (Михайлов, 2017, 2020).

Профиль общих липидов *L. stagnalis* согласуется с другими работами (Chi-Rong Liang, Strickla, 1969; Dembitsky et al., 1992; Аракелова, 2008). Основные ФЛ исследованных образцов — ФХ и ФЭ, иногда значительную долю занимает ЛФХ. Доминирование ФХ и ФЭ связано с тем, что это основные мембранные липиды, играющие важную роль в регуляции физико-химических свойств биологических мембран (Dembitsky et al., 1992; Saito, 2004).

Таблица 3. Состав ЖК *L. stagnalis* из исследованных озер

Жирные кислоты	оз. Солдатское			оз. Б. Васильевское		
	Тело	Печень	Нога	Тело	Печень	Нога
C14:0	2.60 ± 0.13	4.82 ± 0.24	1.75 ± 0.09	2.94 ± 0.15	3.69 ± 0.18	1.72 ± 0.09
C15:0	1.49 ± 0.07	1.00 ± 0.05	2.36 ± 0.12	1.68 ± 0.08	1.50 ± 0.08	2.49 ± 0.13
C16:0	10.74 ± 0.54	15.55 ± 0.78	10.16 ± 0.51	10.43 ± 0.52	13.88 ± 0.64	9.48 ± 0.47
C17:0	2.43 ± 0.12	2.38 ± 0.12	2.27 ± 0.11	1.77 ± 0.09	2.08 ± 0.1	2.01 ± 0.1
C18:0	8.98 ± 0.45	9.80 ± 0.49	8.71 ± 0.44	8.41 ± 0.42	7.79 ± 0.39	9.04 ± 0.45
C24:0	5.51 ± 0.28	3.41 ± 0.17	8.43 ± 0.42	5.96 ± 0.29	3.48 ± 0.17	8.33 ± 0.42
ΣНЖК	31.75 ± 1.59	36.96 ± 1.75	33.67 ± 1.68	31.20 ± 1.56	32.41 ± 1.62	33.07 ± 1.65
C14:1	0.08 ± 0.004	0.40 ± 0.02	0.06 ± 0.003	0.19 ± 0.009	0.50 ± 0.03	0.09 ± 0.005
C15:1	0.09 ± 0.004	0.24 ± 0.01	0.11 ± 0.006	0.12 ± 0.006	0.25 ± 0.01	0.15 ± 0.007
C16:1	1.57 ± 0.08	2.87 ± 0.14	1.06 ± 0.05	2.26 ± 0.12	4.05 ± 0.2	0.95 ± 0.05
C17:1	0.10 ± 0.005	0.31 ± 0.02	0.16 ± 0.008	0.14 ± 0.007	0.25 ± 0.01	0.15 ± 0.007
C18:1n9c	6.47 ± 0.32	4.78 ± 0.24	7.96 ± 0.39	5.47 ± 0.27	4.36 ± 0.22	7.84 ± 0.39
C18:1n7	4.18 ± 0.21	4.19 ± 0.21	4.28 ± 0.21	4.25 ± 0.21	4.64 ± 0.23	4.20 ± 0.21
C20:1	6.02 ± 0.30	6.50 ± 0.33	7.28 ± 0.36	5.57 ± 0.28	5.78 ± 0.29	6.82 ± 0.34
C22:1n9	0.31 ± 0.015	0.27 ± 0.01	0.16 ± 0.008	0.31 ± 0.02	0.51 ± 0.03	0.21 ± 0.01
C24:1	0.33 ± 0.017	0.25 ± 0.01	0.16 ± 0.008	0.22 ± 0.01	0.25 ± 0.01	0.16 ± 0.008
ΣМНЖК	19.15 ± 1	19.82 ± 1.03	21.23 ± 1.07	18.53 ± 0.92	20.57 ± 1.04	20.57 ± 1.04
C16:2	0.40 ± 0.02	0.54 ± 0.03	0.46 ± 0.02	0.76 ± 0.04	0.52 ± 0.03	0.61 ± 0.03
C16:4	—	—	—	—	0.20 ± 0.009	—
C18:2n6c	6.58 ± 0.33	6.38 ± 0.32	6.04 ± 0.3	5.78 ± 0.29	6.82 ± 0.034	6.56 ± 0.33
C18:3n3	5.62 ± 0.28	6.52 ± 0.33	3.05 ± 0.15	3.94 ± 0.19	8.82 ± 0.44	3.88 ± 0.19
C18:3n6	—	—	—	—	0.25 ± 0.01	—
C20:3n6	4.90 ± 0.24	3.72 ± 0.19	4.04 ± 0.2	4.89 ± 0.25	3.64 ± 0.18	4.02 ± 0.2
C20:4n6	1.18 ± 0.06	0.90 ± 0.05	0.74 ± 0.04	1.13 ± 0.06	1.22 ± 0.06	0.73 ± 0.04
C20:3n3c	14.30 ± 0.72	11.54 ± 0.58	15.12 ± 0.8	17.64 ± 0.88	12.44 ± 0.62	17.12 ± 0.86
C20:5n3	8.66 ± 0.43	7.64 ± 0.38	8.62 ± 0.43	9.38 ± 0.47	8.64 ± 0.43	7.45 ± 0.37
C22:6n3	0.37 ± 0.02	0.41 ± 0.02	0.29 ± 0.02	0.33 ± 0.02	0.36 ± 0.02	0.18 ± 0.009
ΣПНЖК	48.23 ± 2.41	42.03 ± 2.10	44.76 ± 2.24	49.78 ± 2.49	46.59 ± 2.31	46.13 ± 2.31
ΣX	6.21 ± 0.31	4.38 ± 0.22	6.40 ± 0.32	5.92 ± 0.3	3.70 ± 0.19	5.57 ± 0.28

Примечание. Даны средние значения, их стандартные ошибки (% суммы ЖК). ΣНЖК — сумма насыщенных жирных кислот, ΣМНЖК — сумма мононенасыщенных жирных кислот, ΣПНЖК — сумма полиненасыщенных жирных кислот, ΣX — сумма неизвестных жирных кислот.

Их содержание в теле, ноге и печени показывает трехкратное преобладание в последней. Это связано с тем, что печень представляет собой неоднородное образование, состоящее из клеток как самой железистой ткани, так и из элементов клеток организмов, составляющих пищу моллюсков, ассимиляция которых вносит определенный вклад в количество липидов (Аракелова, 2008).

Увеличение содержания некоторых липидов в печени моллюсков из оз. Большое Васильевское может быть связано не только с загрязнением, но и с другими экологическими особенностями биотопа, например, с доступностью пищи (Cancio at al., 1999; De La Parra at al., 2005). Более высокая

плотность макрофитов в оз. Солдатское, по сравнению с оз. Большое Васильевское, вероятно, связана с большей доступностью и калорийностью потребляемой пищи. В отличие от печени, которая может включать фрагменты пищи, мышечная ткань более однородная и меньше зависит от источника питания, а больше связана с двигательной активностью, направленной на поиски пищевых ресурсов и ухода от поедания хищниками (Аракелова, 2008).

Выявленные различия в качественном и количественном составе НЛ печени и ноги связаны со спецификой выполняемых ими функций. Эти показатели не зависели от антропогенного воз-

действия. В свою очередь, состав НЛ существенно менялся в тканях целого моллюска. В частности, в два раза увеличивалось содержание ТАГ — одной из форм энергетических и метаболических запасов клетки. Высокое содержание этих компонентов отмечается при влиянии внешних факторов на моллюска (Фокина и др., 2010). Также на стрессовые условия может указывать высокое содержание К, отражающее метаболические особенности организма (Крепс, 1981).

Из минорных липидов в исследовании можно выделить ФИ, поскольку они отражают функциональную роль при адаптации моллюсков, однако отсутствие значимых различий в двух популяциях *L. stagnalis* может указывать на обитание их в неизменяющихся условиях долгое время.

В качестве основных ЖК у пресноводных моллюсков указывают C16:0, C18:1n9, C20:5n3 (Dembitsky et al., 1992; Saito, Aono, 2014). На их количество могут влиять внешние факторы — растительность, температура, загрязненность и т.д. Повышенный уровень ПНЖК в печени и целой особи моллюска из оз. Большое Васильевское (в частности, линолевой, арахидоновой, линоленовой, эйкозатриеновой и эйкозапентаеновой) может указывать на большую вероятность употребления фитопланктона (Doi et al., 2010; Bellou et al., 2014; Gubelit et al., 2015).

Одна из важнейших ЖК, играющих существенную роль в регуляции различных физиологических процессов, таких как иммунный ответ и секреция, — арахидоновая (C20:4n6) кислота. Увеличение ее концентрации в организме происходит при многих патологических состояниях, например, при воспалительных процессах и антропогенных нагрузках (Сергеева, Варфоломеева, 2006). В нашей работе отмечено схожее ее содержание в теле и ноге моллюска из оз. Большое Васильевское, при этом содержание C20:4n6 в печени было значительно выше у особей, собранных в загрязненном озере.

По нашим данным, содержание липидов в печени в большей степени связано с характером питания моллюсков, в ноге — липидный профиль отражает двигательную активность, что в целом соответствует результатам других авторов (Аракелова, 2008; Фокина и др., 2010).

Условия обитания вида лучше отражаются именно в липидном профиле целой особи. Для определения наиболее значимых абиотических факторов среды, влияющих на состав, содержание липидов и ЖК целого моллюска *L. stagnalis* в озерах с разной степенью антропогенного загрязнения, использовали одну из процедур прямой ординации — RDA (рис. 2). Озера на графиках имеют противоположное расположение в соответствии с гидрохимическими показателями (табл. 2). Наибольший вклад в загрязнение

воды оз. Большое Васильевское вносят: перманганатная окисляемость и хлорофилл *a*, немного меньше — содержание ТМ и мутность воды. Различия в расположении на графике озер вносят также такие показатели, как концентрация кальция, магния и жесткость воды. Все это указывает на кардинальные различия воздействующих экологических факторов в исследованных озерах.

Установлена значимая корреляция между содержанием органических веществ и запасных липидов (ТАГ и К), а также с ПНЖК в целом моллюске. ТМ также оказывали влияние на содержание мембранных липидов и ЖК. Максимальная их взаимосвязь среди всех компонентов липидов отмечена для ХОЛ и C18:1n7. Не исключено, что эти изменения способствуют детоксикации ТМ у моллюсков (Фокина и др., 2020). Модификации в длинноцепочечных ПНЖК (с числом атомов углерода 18 и 20) могут быть связаны с активацией перекисного окисления липидов (Chan, Wang, 2018), что часто отмечают при воздействии поллютантов (Фокина и др., 2020). Их дополнительный синтез при действии различных ТМ и органических соединений, вероятно, обеспечивает целостность мембран (Lesser, 2006).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о токсическом загрязнении оз. Большое Васильевское, предположительно влияющем на перераспределение концентраций мембранных и запасных липидов в целом моллюске, а также в его органах и тканях. Возможные доминирующие факторы, оказывающие влияние на липидный профиль моллюска *L. stagnalis*, — загрязнение органическими соединениями и тяжелыми металлами. Для гидробиологических и токсикологических исследований с использованием липидного профиля моллюсков, по нашим данным, предпочтительнее использовать целую особь как показатель интегрированного воздействия абиотических и биотических факторов среды.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают глубокую благодарность О.А. Розенцвет за консультации и ценные замечания, а также Л.М. Тарановой и Л.Г. Тихоновой (Институт экологии Волжского бассейна РАН — филиал Самарского научного центра РАН) за техническую помощь в работе.

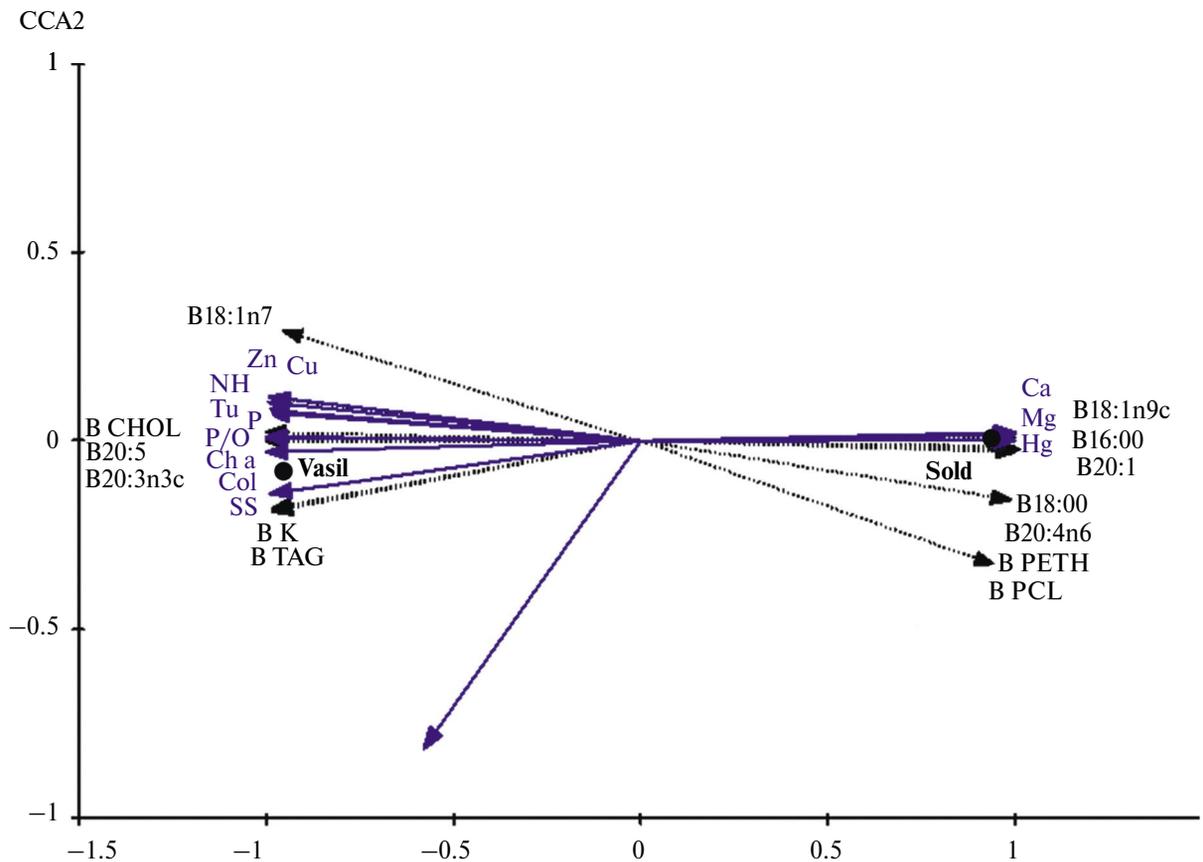


Рис. 2. Ординационная диаграмма RDA связи факторов среды (полужирные векторы) с липидами и ЖК в теле моллюска *Lymnaea stagnalis* (обычные векторы). SS — взвешенные вещества, P/O — перманганатная окисляемость, Tu — мутность воды, Cha — хлорофилл *a*, NH — азот аммонийный, Cu — медь, Zn — цинк, P — фосфор общий, Col — цветность воды, Hd — жесткость воды, Ca — кальций, Fe — железо общее, Mg — магний; B — тело; TAG — TAG, CHOL — ХОЛ, PCL — ФХ, PETH — ФЭ, K — K.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания (темы № 1021060107217-0-1.6.19, № 121050500046-8) и № 1021060107175-5-1.6.19.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аракелова Е.С. 2008. Состав общих липидов и скорость энергетического обмена у брюхоногих моллюсков // Журн. общ. биол. Т. 9. № 6. С. 471.
- Головина И.В., Гостюхина О.Л., Андреев Т.И. 2016. Особенности метаболизма в тканях моллюска-вселенца в Черное море *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906) (Bivalvia: Arcidae) // Рос. журн. биол. инвазий. № 1. С. 53.
- Голубая книга Самарской области: Редкие и охраняемые гидробиоценозы. 2007. Самара: Самар. науч. центр РАН.
- Кейтс М. 1975. Техника липидологии. М.: Мир. (Kates M. 1972. Techniques of lipidology: isolation, analysis and identification of lipids. Amsterdam: North-Holland Publ. Co).
- Крекс Е.М. 1981. Липиды клеточных мембран. Эволюция липидов мозга. Адаптационная функция липидов. Л.: Наука.
- Методические указания. РД 52.24.643-2002. 2002. Метод комплексной оценки и степени загрязненности поверхностных вод по гидрохимическим показателям. СПб.: Гидрометеоиздат.
- Михайлов Р.А. 2017. Малакофауна разнотипных водоемов и водотоков Самарской области. Тольятти: Кассандра.
- Михайлов Р.А. 2020. Распределение легочного моллюска *Lymnaea (Lymnaea) stagnalis* (Mollusca: Gastropoda) в реке Самара (бассейн Саратовского водохранилища) // Вестн. Оренбург. гос. пед. ун-та. Электронный. науч. журн. № 4. С. 169. <http://doi.org/10.32516/2303-9922.2020.36.8>
- Протисты и бактерии озер Самарской области. 2009. Тольятти: Кассандра.

- Руководство по химическому анализу морских и пресных вод при экологическом мониторинге рыбохозяйственных водоемов и перспективных для промысла районов Мирового океана. 2003. М.: Изд-во ВНИРО.
- Сергеева М.Г., Варфоломеева А.Т. 2006. Каскад арахидоновой кислоты. М.: Народное образование.
- Смирнов Л.П., Богдан В.В. 2007. Липиды в физиолого-биохимических адаптациях эктотермных организмов к абиотическим и биотическим факторам среды. М.: Наука.
- Фокина Н.Н., Нефедова З.А., Немова Н.Н. 2010. Липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря. Влияние некоторых факторов среды обитания. Петрозаводск: Карельск. науч. центр РАН.
- Фокина Н.Н., Суховская И.В., Васильева О.В., Немова Н.Н. 2020. Изменения в составе липидов жабр пресноводной мидии *Anodonta cygnea* под действием меди различных концентраций // Биология внутр. вод. № 5. С. 503.
<https://doi.org/10.31857/S0320965220040087>
- Хохуткин И.М., Винарский М.В., Гребенников М.Е. 2009. Моллюски Урала и прилегающих территорий. Семейство Прудовиковые Lymnaeidae (Gastropoda, Pulmonata, Lymnaeiformes). Ч. 1. Екатеринбург: Гощицкий.
- Чеботарева М.А., Забелинский С.А., Шуколюкова Е.П. и др. 2011. Предел изменения индекса ненасыщенности жирно-кислотного состава фосфолипидов при адаптациях моллюсков к биогенными абиогенным факторам внешней среды // Журн. эвол. биохимии и физиологии. Т. 47. № 5. С. 383.
- Bellou S., Baeshen M.N., Elazzazy A.M. et al. 2014. Microalgal lipids biochemistry and biotechnological perspectives // Biotech. Advanc. V. 32. P. 1476.
- Cancio I., Ibabe A., Cajaraville M.P. 1999. Seasonal variation of peroxisomal enzyme activities and peroxisomal structure in mussel a *Mytilus galloprovincialis* and its relationship with the lipid content // Comp. Biochem. C., Pharmacol. Toxicol. Endocrinol. V. 123. P. 135.
- Chi-Rong Liang, Strickla K.P. 1969. Phospholipid metabolism in the molluscs. I. Distribution of phospholipids in the water snail *Lymnaea stagnaliis* // Canad. J. Biochem. V. 47. P. 85.
- Chan C.Y., Wang W.X. 2018. A lipidomic approach to understand copper resilience in oyster *Crassostrea hongkongensis* // Aquat. Toxicol. V. 204. P. 160.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.09.011>
- Cossu C., Doyotte A., Babut M. et al. 2000. Antioxidant biomarkers in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, in response to different contamination profiles of aquatic sediments // Ecotoxicol. and Environ. Saf. V. 45. № 2. P. 106.
<https://doi.org/10.1006/eesa.1999.1842>
- De La Parra A.M., Garcia O., San Juan F. 2005. Seasonal variations on the biochemical composition and lipid classes of the gonadal and storage tissues of *Crassostrea gigas* in relation to the gametogenic cycle // J. Shellfish Res. V. 24. № 2. P. 457.
- Dembitsky V.M., Kashin A.G., Stefanov K. 1992. Comparative investigation of phospholipids and fatty acids of freshwater mollusks from the Volga River basin // Comp. Biochem. and Physiol. V. 102. P. 193.
- Dembitsky V.M., Rezanka T., Kashin A.G. 1993. Fatty acid and phospholipid compositions of freshwater molluscs *Anodonta piscinalis* and *Limnaea fragilis* from the river Volga // Comp. Biochem. and Physiol. V. 105. P. 597.
- Doi H., Yurlova N.I., Kikuchi E. et al. 2010. Stable isotopes indicate individual level trophic diversity in the freshwater gastropod *Lymnaea stagnalis* // J. Molluscan Stud. V. 76. № 4. P. 384.
<https://doi.org/10.1093/mollus/eyq020>
- Fadhlaoui M., Lavoie I. 2021. Effects of Temperature and Glyphosate on Fatty Acid Composition, Antioxidant Capacity, and Lipid Peroxidation in the Gastropod *Lymnaea* sP. // Water. V. 13. № 8. P. 1039.
<https://doi.org/10.3390/w13081039>
- Fortunato H. 2015. Mollusks: tools in environmental and climate research // Am. Malacol. Bull. V. 33. P. 310.
<https://doi.org/10.4003/006.033.0208>
- Gubelit Y.I., Makhutova O.N., Sushchik N.N. et al. 2015. Fatty acid and elemental composition of littoral “green tide” algae from the Gulf of Finland, the Baltic Sea // J. Applied Phycol. V. 27. P. 375.
- Guerlet E., Ledy K., Giambérini L. 2006. Field application of a set of cellular biomarkers in the digestive gland of the freshwater snail *Radix peregra* (Gastropoda, Pulmonata) // Aquat. Toxicol. V. 77. P. 19.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.10.012>
- Lopez C.S., Alice A.F., Heras H. et al. 2006. Role of anionic phospholipids in the adaptation of *Bacillus subtilis* to high salinity // Microbiol. V. 152. P. 605.
- Lesser M.P. 2006. Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology // Annu. Rev. Physiol. V. 68. P. 253.
<https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.68.040104.110001>
- Los D.A., Murata N. 2004. Membrane fluidity and its role in the perception of environmental signals // Biochim. et Biophys. Acta. V. 1666. № 1–2. P. 142.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2004.08.002>
- Saito H. 2004. Lipid and FA composition of the pearl oyster *Pinctada fucata* martensii: influence of season and maturation // Lipids. V. 39. № 10. P. 997.
- Saito H., Aono H. 2014. Characteristics of lipid and fatty acid of marine gastropod *Turbo cornutus*: high levels of arachidonic and n-3 docosapentaenoic acid // Food Chem. V. 145. P. 135.
- Vaskovsky V.E., Latyshev N.A. 1975. Modified Jungnickel’s reagent for detecting phospholipids and Other Phosphorus Compounds on Thin-layer Chromatograms // J. Chromatogr. V. 115. P. 246.
- Vinarski M.V., Kantor Yu.I. 2016. Analytical catalogue of fresh and brackish water molluscs of Russia and adjacent countries. М.: A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of RAS.

Lipid Profile of the Mussels *Lymnaea stagnalis* (Mollusca: Gastropoda) in Lakes with Different Degrees of Anthropogenic Pollution

R. A. Mihaylov^{1, 2, *}, V. N. Nesterov¹, A. V. Rahuba¹

¹Samara Federal Research Scientific Center of the Russian Academy of Sciences,
Institute of Ecology of the Volga River Basin of the Russian Academy of Sciences, Tolyatti, Russian Federation

²Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences,
Borok, Nekouzskii raion, Yaroslavl oblast, Russia

*e-mail: roman_mihaylov_1987@mail.ru

Dependence in water bodies between the degree of anthropogenic impact and the composition of lipids and fatty acids (FA) separately liver, foot and body of *L. stagnalis* has been examined. The lake located within the city limits is susceptible to various types of pollution, the lake in the national park zone is clean. The ecological condition of the different lakes probably influenced the composition and content of total lipids and fatty acids of *L. stagnalis*. The highest lipids have been noted in the liver of the snail. In the body, liver and leg of the species the lipids phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine dominate, the FA — polyunsaturated acids. The change of the lipid and FA content of the *L. stagnalis* in lakes is probably due to the high concentration of organic compounds, heavy metals.

Keywords: lakes, mussels, anthropogenic pollution, environmental factors, adaptation, lipids, fatty acids