

УДК 577.115:594.124:549.263

МОДИФИЦИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ ПОНИЖЕННОЙ СОЛЕННОСТИ НА ИЗМЕНЕНИЯ ЛИПИДНОГО СОСТАВА МИДИЙ *Mytilus edulis* L. В ОТВЕТ НА ДЕЙСТВИЕ НИКЕЛЯ

© 2020 г. Н. Н. Фокина*,[®], Т. Р. Руоколайнен*, И. Н. Бахмет*, Н. Н. Немова*

*Институт биологии — обособленное подразделение Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”, ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, 185910 Россия

[®]E-mail: fokinann@gmail.com

Поступила в редакцию 15.08.2019 г.

После доработки 17.02.2020 г.

Принята к публикации 02.03.2020 г.

Исследована ответная реакция липидов и жирных кислот (ЖК) у *Mytilus edulis* на воздействие пониженной солености морской воды (15‰) и соли никеля в различных концентрациях. Показано изменение состава липидов моллюсков в ответ на пониженную соленость и на воздействие Ni. Отмечено, что в условиях пониженной солености изменения содержания фосфатидилсерина, холестерина и ненасыщенности ЖК фосфолипидов в жабрах и гепатопанкреасе мидий свидетельствуют, скорее всего, о развитии патологических процессов и активации перекисного окисления липидов. Обнаружено, что в условиях нормальной солености (25‰) на начальных этапах эксперимента у исследованных мидий происходили сходные изменения липидного состава, однако к концу эксперимента у них отмечалось восстановление ненасыщенности ЖК фосфолипидов и повышение содержания фосфатидилхолина.

DOI: 10.31857/S0002332920060053

Никель — эссенциальный металл для растений, микроорганизмов, млекопитающих, однако для водных позвоночных и беспозвоночных животных его пищевая ценность не доказана (Denkhaus, Salnikow, 2002; Muysen *et al.*, 2004; Poonkothai, Vijayavathi, 2012). При этом отмечено токсическое воздействие Ni на рыб (Zheng *et al.*, 2014) и беспозвоночных (Millward *et al.*, 2012; Attig *et al.*, 2014; Savorelli *et al.*, 2017). Известно, что негативное воздействие Ni на водные организмы проявляется посредством ингибирования дыхательных процессов (Pane *et al.*, 2004), ослабления ионной регуляции (Pane *et al.*, 2003; Blewett, Leonard, 2017) и стимуляции окислительного стресса (Denkhaus, Salnikow, 2002; Zheng *et al.*, 2014; Blewett, Leonard, 2017). Соленость как один из основных факторов морской среды обитания влияет на многие физиологические процессы, а также модифицирует токсичность ксенобиотиков (Wright, 1995; Blewett, Leonard, 2017). Для осморегулирующих организмов отмечено усиление токсического действия Ni при опреснении среды обитания (Blewett, Leonard, 2017), однако для осмоконформных видов, в том числе для *Mytilus edulis*, зависимость токсичности Ni от солености окружающей среды пока не выявлена. Показано, что пониженная соленость приводит к снижению ряда функций у *M. edulis*: общего метаболизма (Berger, 2005), сер-

дечной активности (Bakhmet *et al.*, 2005) и скорости роста моллюсков (Westerbom *et al.*, 2002). Можно полагать, что подавление общего метаболизма мидий в условиях воздействия пониженной солености будет способствовать усилению токсического действия Ni в различных концентрациях. К основным мишеням для окислительных процессов, индуцированных воздействием ксенобиотиков, относятся мембранные липиды, а именно полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) в составе фосфолипидов (Lesser, 2006).

Цель исследования — выявить модификации состава мембранных и запасных липидов, а также жирных кислот (ЖК) фосфолипидов в жабрах и гепатопанкреасе мидий *M. edulis* L. (1758), вызванные действием Ni в различных концентрациях в условиях нормальной и пониженной солености морской воды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На базе Беломорской биологической станции “Картеш” Зоологического института РАН в сентябре—октябре 2015 г. было изучено влияние Ni в различных концентрациях на *M. edulis* L. (1758). Мидии для эксперимента (400 особей) были отобраны с коллекторов мидиевого хозяйства, находя-

щегося в акватории Сонострова, Кандалакшского залива Белого моря (66°17'09" с.ш. 34°22'53" в.д.) с глубины ~ 3 м. Средний размер раковины составлял 59.2 ± 4.1 мм. Предварительно две группы мидий (по 200 особей в каждой) были акклиматизированы к лабораторным условиям: в течение 2 нед они находились в аквариумах (20 л) с морской водой, соленость составляла 25‰ (соответствовала солености воды в месте сбора материала) и 15‰ (создавалась добавлением дистиллированной воды к природной морской воде). Ежедневно заменяли половину объема воды в аквариумах. Температура воды была постоянной и составляла 10°C, вода постоянно аэрировалась. В дальнейшем мидии из каждой группы были разделены на четыре подгруппы: контрольная содержалась в воде без добавления металла (три аквариума по 15 особей в каждом), три экспериментальные подгруппы содержались в воде с концентрациями Ni 10, 100 и 500 мкг/л (для каждой концентрации – три аквариума по 15 особей в каждом). Необходимую концентрацию Ni получали путем добавления в экспериментальные аквариумы определенного количества стокового раствора хлорида никеля (II, шестиводного). Смену воды и добавление расчетного количества Ni проводили ежедневно. На протяжении эксперимента животных не кормили, чтобы избежать модификаций в составе липидов мидий, связанных с заменой естественного источника пищи на коммерческий корм (Фокина и др., 2015). По истечении 1, 3 и 10 сут эксперимента мягкие ткани (жабры и гепатопанкреас) фиксировали в 97%-ном этиловом спирте для определения состава липидов.

Состав липидов в жабрах и гепатопанкреасе мидий определяли с помощью оборудования Центра коллективного пользования ФИЦ “Карельский научный центр” (Петрозаводск). Экстрагированные методом Фолча (Folch *et al.*, 1957) липиды разделяли на основные классы (фосфолипиды, триацилглицерины и стеринны) на тонкослойных пластинках TLC Silica gel 60 F254 plates (Merck, Германия) в системе растворителей петролейный эфир : серный эфир : уксусная кислота (90 : 10 : 1). Количественное содержание (% сухой массы) полученных фракций общих липидов определяли разными методами (Сидоров и др., 1972; Engelbrecht *et al.*, 1974). Разделение фосфолипидов на отдельные фракции проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе “Стайер” (Аквилон, Россия) (Arduini *et al.*, 1996). Метилловые эфиры ЖК фосфолипидной фракции разделяли на газовом хроматографе (Agilent Technologies, США). Индекс ненасыщенности (ИН) ЖК рассчитывали по формуле: $(\sum \text{МЖК} + 2\sum \text{ДЖК} + 3\sum \text{ТЖК} + 4\sum \text{ТЖК} + 5\sum \text{ПЖК} + 6\sum \text{ГЖК}) / \sum \text{НЖК}$, где МЖК – моноеновые ЖК, ДЖК – диеновые ЖК, ТЖК – триеновые ЖК,

ГЖК – тетраеновые ЖК, ПЖК – пентаеновые ЖК, ГЖК – гексаеновые ЖК.

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием непараметрических критериев Манна–Уитни, Краскела–Уоллиса и Тьюки. Многофакторный дисперсионный анализ был использован для оценки воздействия факторов “соленость”, “концентрация Ni” и “продолжительность воздействия Ni” на исследуемые показатели состава липидов. Различия считались достоверными при $P \sim 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На протяжении эксперимента изменения на уровне липидного состава мидий из контрольной группы, содержащейся в условиях нормальной солености (25‰), не были выявлены (табл. 1), тогда как у мидий, находившихся в условиях пониженной солености (15‰), на 10-е сут эксперимента отмечались значительные изменения в составе липидов (табл. 2). В жабрах было обнаружено снижение содержания холестерина (ХС), фосфатидилсерина (ФС) и фосфатидилэтаноламина (ФЭА), а в гепатопанкреасе – снижение содержания ХС и повышение содержания фосфатидилхолина (ФХ).

В условиях нормальной (25‰) солености в жабрах мидий снижение уровня триацилглицеринов (ТАГ) отмечалось преимущественно под действием повышенных концентраций Ni (табл. 1). Повышение содержания ХС наблюдалось на 3-и сут эксперимента, тогда как его снижение – на 10-е. Влияние наибольшей концентрации Ni (500 мкг/л) способствовало снижению содержания ФХ и ФС (на 1-е сут эксперимента), а также снижению содержания насыщенной кислоты (16:0) и ИН ЖК на 3-и сут эксперимента). На 10-е сут эксперимента отмечалось повышение содержания ПНЖК – эйкозагексаеновой 20:5n-3 (ЭПК) и докозагексаеновой 22:6n-3 (ДГК) кислот. В гепатопанкреасе мидий снижение содержания ТАГ отмечалось на 10-е сут эксперимента. При влиянии 500 мкг Ni/л было обнаружено повышение содержания ХС (на 1-е сут эксперимента) и последующее его снижение при влиянии 100 мкг Ni/л (на 3-и сут эксперимента). На изменения содержания ФХ влияла продолжительность воздействия металла: снижение его содержания отмечалось на 3-и сут эксперимента, а повышение – к концу эксперимента. Значительные изменения содержания ЖК были отмечены на 1-е сут эксперимента при влиянии 500 мкг Ni/л: повышение содержания насыщенной ЖК (16:0) и снижение ИН ЖК, главным образом, за счет ЭПК, ДГК и арахидоновой 20:4n-6 кислоты (АК). В дальнейшем при действии 10 мкг Ni/л отмечалось понижение содержания пальмитиновой 16:0 кислоты

и повышение содержания АК, ДГК (на 3-и сут) и ЭПК (на 10-е сут).

В условиях пониженной (15‰) солености на 1-е сут эксперимента в жабрах мидий было обнаружено повышение содержания ФС, ФЭА, ЭПК и АК (преимущественно при действии 100 и 500 мкг Ni/л) (табл. 1). При этом к концу эксперимента наряду с повышением содержания ТАГ, ХС и ФХ, ФС, отмечалось снижение содержания АК и ИН ЖК. В гепатопанкреасе мидий с 1-х сут эксперимента наблюдалось повышение содержания ФС и ХС, а также снижение содержания 16:0 кислоты. На 3-и сут эксперимента было обнаружено снижение содержания ХС и повышение содержания ЭПК, а к концу эксперимента наблюдали повышение содержания ХС, снижение содержания ФХ и 16:0 кислоты.

Результаты многофакторного дисперсионного анализа показали, что воздействие фактора солености отразилось на содержании ФХ, ФЭА и ДГК в жабрах и в гепатопанкреасе на содержании ЖК (АК, ЭПК, ДГК и ИН ЖК). При этом большинство показателей изменялось под действием Ni в условиях нормальной солености (табл. 2). Изменения содержания ТАГ и 16:0 кислоты (в жабрах), а также ФС и ЭПК (в гепатопанкреасе) зависели от концентрации Ni. Продолжительное влияние Ni оказало наибольшее влияние на большинство исследуемых показателей состава липидов: в жабрах – ФХ, 16:0, ЭПК, ДГК и ИН, а в гепатопанкреасе – ТАГ, ХС, ФХ, 16:0, АК, ЭПК, ДГК и ИН.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Модификации в составе мембранных липидов, отмеченные к концу эксперимента в жабрах и гепатопанкреасе у контрольных моллюсков, акклимированных к пониженной солености морской воды (15‰), способствовали, вероятно, поддержанию гомеостаза жидкостности и проницаемости мембран (Vance, Vance, 2002). При этом изменения липидного состава гепатопанкреаса, по-видимому, обеспечивались посредством использования внутренних резервов организма, поскольку мы отмечали повышение содержания доминирующего фосфолипида мембран – ФХ. Пониженное содержание ХС в жабрах и гепатопанкреасе, а также ФС и ФЭА в жабрах мы ранее отмечали у мидий, акклимированных к пониженной солености (Fokina *et al.*, 2014; Фокина и др., 2016). Необходимо отметить, что указанные эксперименты были проведены осенью, когда моллюски находились на стадии медленного гаметогенеза, который длится у них на протяжении зимы. Напротив, летом при акклимации к солености 15‰ у моллюсков, которые находились на стадии репродуктивного покоя, в жабрах отмечали повышенное содержание фосфолипидов (в частности, ФС, ФЭА и ФХ) и низкое содержание ПНЖК

жабрах мидий (Nemova *et al.*, 2013). Таким образом, можно предположить, что компенсаторные изменения липидного состава в ответ на действие пониженной солености морской воды определяются физиологическим состоянием моллюска, в том числе стадией зрелости гонад, характерной для разных сезонов (Фокина и др., 2007).

В условиях нормальной (25‰) солености в жабрах мидий снижение содержания ТАГ под действием Ni в различных концентрациях свидетельствует об использовании резервных липидных компонентов. При этом наблюдаемое повышение ненасыщенности фосфолипидов, в том числе за счет ЭПК и ДГК, а также снижение содержания ХС направлено, по-видимому, на восстановление общего уровня ненасыщенности липидов и регуляцию проницаемости мембран в ответ на воздействие Ni. Известно, что ПНЖК в составе фосфолипидов мембран обеспечивают текучесть липидного бислоя, тогда как ХС способствует его стабилизации (Vance, Vance, 2002). В гепатопанкреасе мидий мы отмечали изменения в составе липидов и ЖК, указывающие на негативные последствия Ni-индуцированного окислительного стресса, а именно на активацию процессов ПОЛ: снижение ненасыщенности фосфолипидов (в частности, за счет ЭПК, ДГК и АК) на 1-е сут воздействия 500 мкг Ni/л и снижение содержания доминирующего фосфолипида мембран (ФХ) на 3-и сут влияния всех исследуемых концентраций Ni. Основная мишень для окислительных процессов – ПНЖК в составе мембранных липидов. Активация окислительных процессов приводит к повышению содержания продуктов ПОЛ (малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты и др.) и снижению содержания фосфолипидов и их ненасыщенности (Gutteridge, Halliwell, 1990). К концу эксперимента наблюдалось восстановление содержания ФХ (при всех исследуемых концентрациях Ni) и ненасыщенности фосфолипидов (главным образом при 10 мкг Ni/л), что свидетельствует об адаптивных метаболических перестройках у мидий при воздействии токсиканта (Ni).

В условиях пониженной (15‰) солености к концу эксперимента в жабрах отмечалось повышение содержания ФХ, ФС и снижение ненасыщенности фосфолипидов мембран. Возможная локализация ФС на внешней мембранной поверхности может служить сигналом распознавания апоптотических процессов (Fadok *et al.*, 2001), а снижение ненасыщенности фосфолипидов указывает на протекание процессов ПОЛ на 10-е сут эксперимента. В гепатопанкреасе мидий с 1-х сут эксперимента отмечалось повышение содержания ФС и ХС. Некоторые авторы связывают высокий уровень метаболизма ХС с развитием патологических изменений (в том числе апоптотических) в присутствии Ni (Lü *et al.*, 2009). Однако необходимо отметить, что у кон-

Таблица 1. Содержание липидов (% сухого веса) и ЖК (% суммы ЖК) в жабрах и гепатопанкреасе *Mytilus edulis* (средние значения ± ошибка среднего) при влиянии Ni в условиях нормальной I и пониженной II солёности (25 и 15‰ соответственно)

		Жабры I															
		I					3					10					
		0	10	100	500	0	10	100	500	0	10	100	500	0	10	100	500
Концентрация Ni, мкг/л		0	10	100	500	0	10	100	500	0	10	100	500	0	10	100	500
Продолжительность воздействия, сут		1					3					10					
Триацилглицерины		1.58 ± 0.19	1.44 ± 0.21	0.29 ± 0.19*	0.06 ± 0.05*	0.06 ± 0.06	0.63 ± 0.25*	0.13 ± 0.11	0.00 ± 0.00	1.41 ± 1.03	0.25 ± 0.10	0.00 ± 0.00*	0.01 ± 0.01	6.23 ± 0.43	5.23 ± 0.31*	4.93 ± 0.23*	3.94 ± 1.47
Холестерин		4.70 ± 0.56	5.86 ± 0.72	5.95 ± 0.28	5.76 ± 0.77	4.54 ± 1.09	6.17 ± 0.30	6.93 ± 0.55*	7.06 ± 0.99	4.69 ± 1.09	5.17 ± 0.27	5.49 ± 0.66	5.17 ± 1.01	4.69 ± 1.09	5.17 ± 0.27	5.49 ± 0.66	5.17 ± 1.01
Фосфатидилхолин		3.45 ± 0.19	4.24 ± 0.55	3.20 ± 0.33	2.54 ± 0.40*	4.13 ± 1.00	3.40 ± 0.59	2.90 ± 0.20	3.38 ± 0.45	0.41 ± 0.04	0.39 ± 0.04	0.37 ± 0.02	0.31 ± 0.10	0.41 ± 0.04	0.39 ± 0.04	0.37 ± 0.02	0.31 ± 0.10
Фосфатидилэтаноламин		0.36 ± 0.01	0.37 ± 0.03	0.30 ± 0.03	0.24 ± 0.05	0.29 ± 0.07	0.34 ± 0.04	0.29 ± 0.01	0.27 ± 0.03	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.11 ± 0.05	0.15 ± 0.07	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.11 ± 0.05	0.15 ± 0.07
Фосфатидилсерин		0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.07 ± 0.01	0.05 ± 0.02*	0.16 ± 0.05	0.17 ± 0.03	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.02	9.73 ± 1.67	8.55 ± 1.17	7.11 ± 0.63	8.31 ± 0.83	9.73 ± 1.67	8.55 ± 1.17	7.11 ± 0.63	8.31 ± 0.83
16:0		9.59 ± 1.24	10.09 ± 0.58	7.66 ± 1.33	8.08 ± 1.21	12.91 ± 1.23	12.60 ± 1.56	8.97 ± 1.72	7.16 ± 1.19*	3.84 ± 0.51	4.75 ± 0.26	3.14 ± 0.35	3.12 ± 0.29	3.84 ± 0.51	4.75 ± 0.26	3.14 ± 0.35	3.12 ± 0.29
20:4n-6		4.05 ± 0.36	3.33 ± 0.61	3.67 ± 0.41	4.09 ± 0.52	3.86 ± 0.63	2.61 ± 0.49	3.64 ± 0.46	4.49 ± 0.33	9.12 ± 0.79	13.09 ± 1.03*	10.85 ± 0.67	9.76 ± 1.50	9.12 ± 0.79	13.09 ± 1.03*	10.85 ± 0.67	9.76 ± 1.50
20:5n-3		10.48 ± 0.81	8.20 ± 0.80	10.07 ± 0.98	10.34 ± 0.80	9.65 ± 1.11	7.16 ± 1.14	10.98 ± 1.47	12.84 ± 1.15	15.11 ± 1.31	18.43 ± 1.16*	15.94 ± 1.56	15.69 ± 2.49	15.11 ± 1.31	18.43 ± 1.16*	15.94 ± 1.56	15.69 ± 2.49
22:6n-3		15.75 ± 1.68	14.06 ± 1.12	14.49 ± 1.82	15.12 ± 1.47	15.57 ± 1.33	13.29 ± 2.00	14.65 ± 1.29	19.28 ± 1.41	12.39 ± 1.52	16.60 ± 2.48	11.97 ± 2.69	11.49 ± 3.83	12.39 ± 1.52	16.60 ± 2.48	11.97 ± 2.69	11.49 ± 3.83
Индекс ненасыщенности		12.71 ± 2.59	8.41 ± 1.78	14.45 ± 2.93	15.80 ± 2.25	9.85 ± 1.86	8.40 ± 0.99	12.85 ± 1.75	17.11 ± 1.75*								
		Гепатопанкреас I															
		I					3					10					
Концентрация Ni, мкг/л		0	10	100	500	0	10	100	500	0	10	100	500	0	10	100	500
Продолжительность воздействия, сут		1					3					10					
Триацилглицерины		10.34 ± 1.59	8.59 ± 0.72	6.37 ± 1.55	8.80 ± 1.19	12.83 ± 1.03	12.93 ± 1.30	10.33 ± 1.79	13.24 ± 1.56	8.02 ± 1.42	3.14 ± 1.25*	5.80 ± 1.71	4.07 ± 1.67	8.02 ± 1.42	3.14 ± 1.25*	5.80 ± 1.71	4.07 ± 1.67
Холестерин		4.92 ± 0.39	4.74 ± 0.38	4.34 ± 0.40	6.30 ± 0.43*	4.54 ± 0.23	4.75 ± 0.36	3.66 ± 0.21*	3.99 ± 0.19	4.14 ± 0.49	4.16 ± 0.12	3.52 ± 0.26	3.13 ± 0.28	4.14 ± 0.49	4.16 ± 0.12	3.52 ± 0.26	3.13 ± 0.28
Фосфатидилхолин		1.88 ± 0.15	1.37 ± 0.14*	2.60 ± 0.25*	2.04 ± 0.12	2.59 ± 0.20	1.94 ± 0.09*	1.85 ± 0.14*	1.97 ± 0.15*	2.62 ± 0.21	4.42 ± 0.27*	3.64 ± 0.38*	4.19 ± 0.29*	2.62 ± 0.21	4.42 ± 0.27*	3.64 ± 0.38*	4.19 ± 0.29*
Фосфатидилэтаноламин		0.39 ± 0.04	0.62 ± 0.32	0.42 ± 0.02	0.42 ± 0.04	0.40 ± 0.05	0.39 ± 0.03	0.43 ± 0.05	0.33 ± 0.06	0.48 ± 0.07	0.55 ± 0.07	0.53 ± 0.07	0.47 ± 0.02	0.48 ± 0.07	0.55 ± 0.07	0.53 ± 0.07	0.47 ± 0.02
Фосфатидилсерин		0.10 ± 0.04	0.12 ± 0.05	0.11 ± 0.03	0.11 ± 0.04	0.09 ± 0.02	0.06 ± 0.01	0.25 ± 0.16	0.13 ± 0.03	0.11 ± 0.03	0.15 ± 0.06	0.15 ± 0.03	0.06 ± 0.01	0.11 ± 0.03	0.15 ± 0.06	0.15 ± 0.03	0.06 ± 0.01
16:0		10.10 ± 0.83	10.74 ± 1.19	11.47 ± 1.68	22.96 ± 2.95*	11.26 ± 0.80	9.02 ± 0.28*	12.36 ± 0.99	10.04 ± 0.60	9.14 ± 0.60	7.79 ± 0.50	8.69 ± 1.00	8.35 ± 0.71	9.14 ± 0.60	7.79 ± 0.50	8.69 ± 1.00	8.35 ± 0.71
20:4n-6		1.89 ± 0.16	2.18 ± 0.21	2.23 ± 0.47	0.76 ± 0.26*	2.31 ± 0.13	2.83 ± 0.14*	2.48 ± 0.29	2.34 ± 0.19	1.86 ± 0.12	1.95 ± 0.24	1.61 ± 0.13	1.78 ± 0.07	1.86 ± 0.12	1.95 ± 0.24	1.61 ± 0.13	1.78 ± 0.07
20:5n-3		14.20 ± 1.06	14.96 ± 1.06	13.62 ± 1.74	4.24 ± 1.63*	15.16 ± 0.42	15.77 ± 0.52	13.74 ± 0.76	14.00 ± 0.67	14.32 ± 0.61	16.50 ± 0.85*	12.55 ± 1.24	15.42 ± 0.42	14.32 ± 0.61	16.50 ± 0.85*	12.55 ± 1.24	15.42 ± 0.42
22:6n-3		19.14 ± 2.27	20.71 ± 0.85	18.26 ± 2.75	5.75 ± 2.43*	18.30 ± 1.30	21.42 ± 0.63*	18.57 ± 1.04	19.89 ± 0.90	21.50 ± 1.55	23.19 ± 1.23	20.61 ± 3.14	23.60 ± 1.89	21.50 ± 1.55	23.19 ± 1.23	20.61 ± 3.14	23.60 ± 1.89
Индекс ненасыщенности		10.04 ± 1.76	10.84 ± 1.22	9.78 ± 1.81	2.48 ± 0.96*	9.98 ± 1.14	12.02 ± 0.67	8.49 ± 0.82	10.28 ± 0.75	11.64 ± 1.39	15.97 ± 1.22*	12.72 ± 2.07	15.47 ± 1.79	11.64 ± 1.39	15.97 ± 1.22*	12.72 ± 2.07	15.47 ± 1.79

Таблица 1. Окончание

Концентрация Ni, мкг/л	Жабры II															
	1					3					10					
	0	10	100	500	0	10	100	500	0	10	100	500	0	10	100	500
Продолжительность воздействия, сут	1					3					10					
Триацилглицерины	0.39 ± 0.29	0.32 ± 0.20	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.51 ± 0.28	0.65 ± 0.22	0.53 ± 0.24	0.07 ± 0.07	0.41 ± 0.08	0.40 ± 0.09	0.95 ± 0.14*	0.64 ± 0.18				
Холестерин	8.34 ± 0.64*	6.29 ± 1.16	10.27 ± 1.94	8.05 ± 0.67	5.74 ± 0.82	7.28 ± 0.74	6.49 ± 0.53	5.79 ± 0.46	3.53 ± 0.55*	4.44 ± 0.54	4.77 ± 0.88	5.58 ± 0.39*				
Фосфатидилхолин	2.67 ± 0.11	1.57 ± 0.44	2.80 ± 0.36	3.30 ± 0.52	3.22 ± 0.89	3.00 ± 0.48	2.56 ± 0.56	3.02 ± 0.33	3.15 ± 0.24	5.56 ± 0.36*	3.30 ± 0.61	4.66 ± 0.36*				
Фосфатидилэтанол- амин	0.26 ± 0.02*	0.16 ± 0.04*	0.33 ± 0.04	0.30 ± 0.02*	0.30 ± 0.05	0.32 ± 0.05	0.33 ± 0.05	0.25 ± 0.02	0.13 ± 0.03*	0.18 ± 0.02	0.19 ± 0.04	0.22 ± 0.04				
Фосфатидилсерин	0.05 ± 0.01*	0.04 ± 0.01	0.17 ± 0.04*	0.12 ± 0.02*	0.13 ± 0.03	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.07 ± 0.02*	0.05 ± 0.01*	0.09 ± 0.01*	0.08 ± 0.02	0.09 ± 0.01*				
16:0	8.27 ± 1.30	7.85 ± 2.01	10.98 ± 3.16	8.14 ± 1.54	13.62 ± 2.86	8.99 ± 1.66	11.92 ± 1.89	9.67 ± 1.48	6.74 ± 0.60	7.56 ± 0.90	7.86 ± 0.76	5.35 ± 0.93				
20:4n-6	2.99 ± 0.40	3.30 ± 0.70	3.10 ± 0.71	4.49 ± 0.14*	2.33 ± 0.44	2.57 ± 0.60	3.76 ± 0.92	3.55 ± 0.72	4.27 ± 0.13	4.60 ± 0.23	3.71 ± 0.14*	4.15 ± 0.42				
20:5n-3	7.68 ± 1.05	9.33 ± 1.81	8.78 ± 1.91	10.77 ± 0.99*	6.10 ± 1.62	8.00 ± 1.32	7.81 ± 1.87	9.53 ± 2.00	11.80 ± 0.54	12.14 ± 1.02	9.82 ± 0.60	11.96 ± 1.32				
22:6n-3	11.22 ± 2.16	12.15 ± 1.64	13.31 ± 2.74	14.75 ± 1.02	9.72 ± 2.67	11.26 ± 2.34	11.51 ± 2.44	13.49 ± 2.70	16.31 ± 0.56	16.97 ± 1.45	13.16 ± 1.69	15.90 ± 0.78				
Индекс ненасыщенности	8.93 ± 3.17	12.30 ± 2.77	12.12 ± 5.10	14.94 ± 3.80	9.60 ± 3.45	12.95 ± 2.61	9.99 ± 3.77	9.93 ± 3.53	19.24 ± 1.15	16.81 ± 1.26	12.38 ± 2.85*	21.01 ± 2.80				
Гепатопанкреас II																
Концентрация Ni, мкг/л	1					3					10					
Продолжительность воздействия, сут	1					3					10					
Триацилглицерины	8.96 ± 1.59	11.60 ± 1.48	11.93 ± 1.09	7.91 ± 1.62	11.49 ± 1.96	10.94 ± 2.88	10.93 ± 3.23	12.91 ± 3.00	4.62 ± 1.92	3.21 ± 1.81	1.94 ± 0.43	4.91 ± 1.92				
Холестерин	3.97 ± 0.31*	4.23 ± 0.46	5.84 ± 0.63*	4.63 ± 0.19	5.64 ± 0.31	5.13 ± 0.19	4.62 ± 0.29*	3.96 ± 0.27*	3.20 ± 0.17*	4.20 ± 0.25*	3.36 ± 0.66	4.28 ± 0.21*				
Фосфатидилхолин	2.42 ± 0.28*	1.86 ± 0.15	2.24 ± 0.47	2.03 ± 0.09	2.19 ± 0.27	2.42 ± 0.37	2.55 ± 0.55	2.19 ± 0.37	3.19 ± 0.25*	2.79 ± 0.43	2.26 ± 0.49*	2.85 ± 0.50				
Фосфатидилэтанол- амин	0.33 ± 0.03	0.39 ± 0.05	0.52 ± 0.14	0.31 ± 0.04	0.50 ± 0.10	0.42 ± 0.10	0.49 ± 0.01	0.38 ± 0.05	0.34 ± 0.04	0.32 ± 0.05	0.32 ± 0.11	0.34 ± 0.04				
Фосфатидилсерин	0.05 ± 0.01	0.07 ± 0.02	0.16 ± 0.08	0.09 ± 0.01*	0.09 ± 0.02	0.08 ± 0.02	0.13 ± 0.05	0.08 ± 0.03	0.04 ± 0.01	0.07 ± 0.03	0.12 ± 0.06	0.08 ± 0.04				
16:0	13.60 ± 1.68	14.15 ± 1.21	10.12 ± 0.45	8.86 ± 0.61*	11.86 ± 1.66	8.96 ± 0.94	9.20 ± 0.91	9.05 ± 0.73	10.06 ± 0.75	7.74 ± 0.91*	8.67 ± 0.23	7.61 ± 0.83*				
20:4n-6	2.36 ± 0.36	2.04 ± 0.28	2.28 ± 0.18	2.76 ± 0.35	1.90 ± 0.40	2.44 ± 0.38	2.79 ± 0.43	1.83 ± 0.16	2.35 ± 0.41	2.19 ± 0.29	2.33 ± 0.14	1.77 ± 0.15				
20:5n-3	14.10 ± 1.47	13.62 ± 0.51	14.48 ± 1.12	16.15 ± 1.09	11.14 ± 1.46	15.86 ± 1.12*	14.98 ± 1.03*	14.37 ± 0.56*	17.19 ± 1.19	15.62 ± 0.49	16.13 ± 1.00	15.44 ± 0.96				
22:6n-3	18.24 ± 1.51	17.22 ± 1.35	17.72 ± 1.83	21.58 ± 1.51	17.73 ± 4.00	21.43 ± 0.79	21.93 ± 1.60	22.82 ± 1.85	21.90 ± 2.38	28.27 ± 2.32	24.01 ± 2.13	25.28 ± 1.59				
Индекс ненасыщенности	9.33 ± 1.30	8.22 ± 0.57	10.49 ± 0.99	12.34 ± 1.22	9.09 ± 2.04	12.96 ± 1.22	12.45 ± 1.76	14.08 ± 1.93	13.73 ± 2.02	17.36 ± 2.13	13.94 ± 0.94	16.39 ± 1.82				

Примечание. * — различия достоверны при сравнении контрольной и опытной групп в определенной концентрации Ni, критерий Манна-Уитни; " — различия достоверны при сравнении контрольных групп (без воздействия Ni) в зависимости от продолжительности эксперимента, критерий Краскала-Уоллиса.

Таблица 2. Результаты многофакторного дисперсионного анализа исследуемых липидных показателей в жабрах и гепатопанкреасе *Mytilus edulis* в зависимости от солёности, концентрации Ni и продолжительности его воздействия

Показатель	Жабры					Гепатопанкреас				
	Соленость	Концентрация	Продолжительность	Соленость × концентрация × продолжительность		Соленость	Концентрация	Продолжительность	Соленость × концентрация × продолжительность	
Триацилглицерины	SS	0.20	6.23	0.88	3.66	2.00	34.62	1153.50	99.52	
	MS	0.20	2.08	0.44	0.61	2.00	11.54	576.75	16.59	
	F	0.56	5.77	1.22	1.69	0.13	0.73	36.63	1.05	
	p	0.46	<0.01	0.30	0.13	0.72	0.53	<0.01	0.40	
	η2	0.00	0.11	0.02	0.06	0.00	0.01	0.39	0.03	
Холестерин	SS	1.21	56.45	16.10	53.99	0.15	1.49	26.48	16.50	
	MS	1.21	18.82	8.05	9.00	0.15	0.50	13.24	2.75	
	F	0.11	1.77	0.76	0.85	0.25	0.82	21.95	4.56	
	p	0.74	0.16	0.47	0.54	0.62	0.48	<0.01	<0.01	
	η2	0.00	0.04	0.01	0.04	0.00	0.01	0.20	0.13	
Фосфатидилсерин	SS	0.01	0.00	0.01	0.04	0.03	0.10	0.01	0.06	
	MS	0.01	0.00	0.01	0.01	0.03	0.03	0.00	0.01	
	F	2.58	0.34	2.31	2.21	2.71	2.77	0.25	0.85	
	p	0.11	0.80	0.10	0.05	0.10	0.05	0.78	0.53	
	η2	0.02	0.01	0.03	0.09	0.02	0.07	0.00	0.04	
Фосфатидилэтаноламин	SS	0.22	0.02	0.01	0.07	0.12	0.12	0.00	0.09	
	MS	0.22	0.01	0.00	0.01	0.12	0.04	0.00	0.02	
	F	27.51	0.77	0.42	1.45	2.84	0.96	0.01	0.37	
	p	0.01	0.52	0.66	0.21	0.10	0.42	0.99	0.89	
	η2	0.17	0.01	0.01	0.05	0.02	0.02	0.00	0.02	
Фосфатидилхоллин	SS	17.65	2.88	68.00	20.41	0.93	0.11	33.34	9.03	
	MS	17.65	0.96	34.00	3.40	0.93	0.04	16.67	1.51	
	F	11.86	0.65	22.85	2.29	1.96	0.08	35.19	3.18	
	p	<0.01	0.59	<0.01	0.04	0.16	0.97	<0.01	0.01	
	η2	0.07	0.01	0.26	0.08	0.01	0.00	0.31	0.08	

Таблица 2. Окончание

Показатель	Жабры				Гепатопанкреас			
	Соленость	Концентрация	Продолжительность	Соленость × концентрация × продолжительность	Соленость	Концентрация	Продолжительность	Соленость × концентрация × продолжительность
16:0	SS	78.04	178.53	44.44	30.26	42.79	364.93	313.27
	MS	2.83	26.01	89.26	7.41	14.26	182.46	52.21
	F	0.23	2.14	7.36	0.61	2.29	29.36	8.40
	p	0.63	0.10	<0.01	0.72	0.03	<0.01	<0.01
	η2	0.00	0.05	0.11	0.03	0.02	0.21	0.18
20:4п-6	SS	0.60	4.37	6.42	5.43	3.35	3.26	7.41
	MS	0.60	1.46	3.21	0.90	1.12	1.63	1.23
	F	0.48	1.16	2.55	0.72	3.04	4.44	3.36
	p	0.49	0.33	0.08	0.63	0.03	0.01	<0.01
	η2	0.00	0.03	0.04	0.03	0.06	0.06	0.13
20:5п-3	SS	15.16	43.89	82.68	57.72	67.60	99.22	243.49
	MS	15.16	14.63	41.34	9.62	22.53	49.61	40.58
	F	1.94	1.87	5.28	1.23	4.25	9.36	7.66
	p	0.17	0.14	0.01	0.30	0.01	<0.01	<0.01
	η2	0.01	0.04	0.08	0.05	0.05	0.08	0.20
22:6п-3	SS	148.86	61.28	116.00	61.55	118.14	773.40	416.67
	MS	148.86	20.43	58.00	10.26	39.38	386.70	69.44
	F	9.12	1.25	3.55	0.63	2.07	20.36	3.66
	p	<0.01	0.30	0.03	0.71	0.11	<0.01	<0.01
	η2	0.07	0.03	0.06	0.03	0.03	0.21	0.11
Индекс ненасыщенности	SS	13.02	156.48	286.39	319.32	82.01	611.22	156.01
	MS	13.02	52.16	143.20	53.22	27.34	305.61	26.00
	F	0.34	1.36	3.72	1.38	2.50	27.97	2.38
	p	0.56	0.26	0.03	0.23	0.06	<0.01	0.03
	η2	0.00	0.03	0.06	0.07	0.04	0.27	0.07

Примечание. SS – сумма квадратов отклонений, MS – дисперсия, F – критерий Фишера, p – p-уровень, η2 – степень влияния двух или более факторов.

трольных мидий, акклимированных к пониженной солености, отмечалось пониженное содержание ХС (в жабрах и гепатопанкреасе) и ФС (только в жабрах) к концу эксперимента. Вероятно, повышение содержания ХС и ФС у мидий под действием Ni направлено на стабилизацию проницаемости мембран, подверженной модификациям в условиях пониженной солености.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ответная реакция мидий на уровне липидов на воздействие Ni в условиях нормальной и пониженной солености морской воды определялась как концентрацией и продолжительностью воздействия исследуемой соли металла, так и соленостью среды. В жабрах мидий во всех экспериментальных группах эта реакция проявлялась на уровне изменений содержания фосфолипидных фракций (ФХ и ФЭА), а также – 22:6n-3 (ДГК). В гепатопанкреасе мидий изменения связаны прежде всего с содержанием физиологически активных ПНЖК (АК, ЭПК и ДГК) и общим уровнем ненасыщенности фосфолипидов. Следует отметить, что в условиях пониженной солености эти изменения менее выражены. Это может быть связано со снижением общего метаболизма у мидий в условиях пониженной солености, что было ранее отмечено в ряде работ. Следствием этого могут быть снижение поступления металла (Ni) в ткани моллюска и, соответственно, сравнительно низкая ответная реакция на уровне липидного и жирно-кислотного состава в жабрах и гепатопанкреасе. Обнаруженное к концу эксперимента повышенное содержание ХС, ФС и снижение ИН ЖК в составе фосфолипидов у мидий при воздействии металла в условиях пониженной солености может указывать на синергичное влияние исследуемых факторов. Отмеченные определенные модификации в составе липидов мембран у экспериментальных групп мидий при нормальной солености носят, скорее всего, адаптивный характер и обеспечивают восстановление состава липидов до исходного уровня в условиях воздействия токсиканта (Ni).

Авторы выражают благодарность руководству и сотрудникам Беломорской биологической станции “Картеш” ЗИН РАН за предоставленную возможность проводить исследования на станции и за помощь в постановке экспериментов.

Работа выполнена в рамках государственного задания № 0218-2019-0076 (№ АААА-А17-117031710039-3) и при финансовой поддержке РФФИ (грант 17-04-01431_a).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Сидоров В.С., Лизенко Е.И., Болгова О.М., Нефедова З.А. Липиды рыб. 1. Методы анализа // Лососевые (*Salmonidae*) Карелии. Вып. 1. Экология. Паразитофа-

уна. Биохимия. Петрозаводск: КФАН СССР, 1972. С. 150–163.

Фокина Н.Н., Бахмет И.Н., Немова Н.Н. Совместное влияние нефти и пониженной солености морской воды на липидный состав гепатопанкреаса беломорских мидий *Mytilus edulis* // Тр. ЗИН РАН. 2016. Т. 320. № 3. С. 357–366.

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 // Журн. эволюц. физиологии и биохимии. 2007. Т. 43. С. 379–387.

Фокина Н.Н., Руоколайнен Т.Р., Немова Н.Н., Бахмет И.Н. Изменение состава липидов в результате акклимации мидий *Mytilus edulis* L. к лабораторным условиям // Тр. КарНЦ РАН. 2015. № 11. С. 76–84.

Arduini A., Pescechera 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 // J. Lipid Res. 1996. V. 37(3). P. 684–689.

Attig H., Kamel N., Sforzini S., Dagnino A., Jamel J., Boussetta H., Viarengo A., Banni M. Effects of thermal stress and nickel exposure on biomarkers responses in *Mytilus galloprovincialis* (Lam) // Mar. Environ. Res. 2014. V. 94. P. 65–71.

Bakhmet I.N., Berger V.J., Khalaman V.V. The effect of salinity change on the heart rate of *Mytilus edulis* specimens from different ecological zones // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2005. V. 318. № 2. P. 121–126.

Berger V.J. On the minimal terms of triggering the processes of phenotypic adaptation // Dokl. Biol. Sci. 2005. V. 400. № 1. P. 57–60.

Blewett T.A., Leonard E.M. Mechanisms of nickel toxicity to fish and invertebrates in marine and estuarine waters // Environ. Poll. 2017. V. 223. P. 311–322.

Denkhaus E., Salnikow K. Nickel essentiality, toxicity, and carcinogenicity // Crit. Rev. Oncol. Hematol. 2002. V. 42. № 1. P. 35–56.

Engelbrecht F.M., Mari F., Anderson J.T. Cholesterol determination in serum: a rapid direction method // South Afr. Med. J. 1974. V. 48(7). P. 250–256.

Fadok V.A., Bratton D.L., Henson P.M. Phagocyte receptors for apoptotic cells: recognition, uptake, and consequences // J. Clin. Investigat. 2001. V. 108. № 7. P. 957–962.

Fokina N.N., Bakhmet I.N., Shklyarevich G.A., Nemova N.N. Effect of seawater desalination and oil pollution on the lipid composition of blue mussels *Mytilus edulis* L. from the White Sea // Ecotoxicol. Environ. Safety. 2014. V. 110. P. 103–109.

Folch J., Lees M., Stanley J. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. 1957. V. 226. P. 497–509.

Gutteridge J.M., Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems // Trends Biochem. Sci. 1990. V. 15(4). P. 129–135.

Lesser M.P. Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology // Annu. Rev. Physiol. 2006. V. 68. P. 253–278.

- Lü X., Bao X., Huang Y., Qu Y., Lu H., Lu Z. Mechanisms of cytotoxicity of nickel ions based on gene expression profiles // *Biomaterials*. 2009. V. 30(2). P. 141–148.
- Millward G.E., Kadam S., Jha A.N. Tissue-specific assimilation, depuration and toxicity of nickel in *Mytilus edulis* // *Environ. Pollut.* 2012. V. 162. P. 406–412.
- Muyssen B.T., Brix K.V., DeForest D.K., Janssen C.R. Nickel essentiality and homeostasis in aquatic organisms // *Environ. Rev.* 2004. V. 12(2). P. 113–131.
- Nemova N.N., Fokina N.N., Nefedova Z.A., Ruokolainen T.R., Bakhmet I.N. Modifications of gill lipid composition in littoral and cultured blue mussels *Mytilus edulis* L. under the influence of ambient salinity // *Polar Record*. 2013. V. 49(3). P. 272–277.
- Pane E.F., Haque A., Wood C.M. Mechanistic analysis of acute, Ni-induced respiratory toxicity in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): an exclusively branchial phenomenon // *Aquat. Toxicol.* 2004. V. 69. № 1. P. 11–24.
- Pane E.F., Smith C., McGeer J.C., Wood C.M. Mechanisms of acute and chronic waterborne nickel toxicity in the freshwater cladoceran, *Daphnia magna* // *Environ. Sci. Technol.* 2003. V. 37(19). P. 4382–4389.
- Poonkothai M., Vijayavathi B.S. Nickel as an essential element and a toxicant // *Int. J. Environ. Sci.* 2012. V. 1. № 4. P. 285–288.
- Savorelli F., Manfra L., Croppo M., Tornambè A., Palazzi D., Canepa S., Trentini P.L., Cicero A.M., Faggio C. Fitness evaluation of *Ruditapes philippinarum* exposed to Ni // *Biol. Trace Element Res.* 2017. V. 177(2). P. 384–393.
- Vance D.E., Vance J.E. (Eds). *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes*. 4th ed. Amsterdam: Elsevier, 2002. 607 p.
- Westerbom M., Kilpi M., Mustonen O. Blue mussels, *Mytilus edulis*, at the edge of the range: population structure, growth and biomass along a salinity gradient in the north-eastern Baltic Sea // *Mar. Biol.* 2002. V. 140. № 5. P. 991–999.
- Wright D.A. Trace metal and major ion interactions in aquatic animals // *Mar. Pollut. Bull.* 1995. V. 31. № 1–3. P. 8–18.
- Zheng G.H., Liu C.M., Sun J.M., Feng Z.J., Cheng C. Nickel-induced oxidative stress and apoptosis in *Carassius auratus* liver by JNK pathway // *Aquat. Toxicol.* 2014. V. 147. P. 105–111.

Modifying Effect of Low Salinity on Changes in the Lipid Composition of Mussels *Mytilus edulis* L. in Response to Nickel Effect

N. N. Fokina^{1, #}, T. R. Ruokolainen¹, I. N. Bakhmet¹, and N. N. Nemova¹

¹*Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Pushkinskaya st., 11, Petrozavodsk, 185910 Russia*

[#]*e-mail: fokinann@gmail.com*

Lipid and fatty acids (FA) composition of mussels *Mytilus edulis* under the effects of reduced salinity (15‰) and nickel salt in various concentrations was studied. It was shown changes in the lipid composition of mussels in response to reduced salinity and to the effect of Ni. Under low salinity, changes in the phosphatidylserine, cholesterol and phospholipid unsaturated FA content in the gills and digestive glands of mussels most likely indicate the development of pathological processes and activation of lipid peroxidation. Under normal salinity (25‰) at the initial stages of the experiment, the studied mussels underwent similar changes in the lipid composition, however, by the end of the experiment, the restoration of the phospholipid unsaturated FA content and an increase in the phosphatidylcholine content were observed.