

УДК [543.544.52+543.51]:59.084(593.4)

О. Ю. Глызина<sup>1</sup>, С. В. Базарсадуева<sup>2</sup>, А. В. Глызин<sup>1</sup>,  
Л. Д. Раднаева<sup>2,3</sup>, В. В. Тараскин<sup>2,3</sup>, Т. Н. Башарина<sup>1</sup>,  
В. Б. Ицкович<sup>1</sup>

**ИЗМЕНЕНИЕ ЛИПИДНОГО СОСТАВА У  
LUBOMIRSKIA BAIKALENSIS ПРИ ПОВЫШЕНИИ  
ТЕМПЕРАТУРЫ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ В УСЛОВИЯХ  
ЭКСПЕРИМЕНТА\***

Проведено сравнение изменчивости состава липидной фракции (жирные кислоты, альдегиды, стерины) у байкальской эндемичной губки *Lubomirskia baikalensis* Pallas. Обсуждаются особенности изменчивости липидного состава губки при повышении температуры воды, как средства адаптации и регуляции симбиотических отношений в сообществах эндемичных губок оз. Байкал.

**Ключевые слова:** пресноводная губка, стерины, альдегиды, жирные кислоты, адаптация, температура, оз. Байкал, пресноводный аквариумный комплекс.

Жизнь организмов лимитирована специфическим диапазоном температур, в пределах которого увеличение температуры на 10° теоретически увеличивает в 2—4 раза скорость реакции обменных процессов. Губки относятся к пойкилотермным водным организмам, и поэтому изменение температуры влияет на них более значительно. Многочисленные исследования показали, что одним из механизмов выживания организмов при повышении привычных температур является изменение липидных компонентов клеточных мембран. При этом отмечено, что степень вовлечения липидов в адаптационные процессы зависит от биологических особенностей различных видов организмов [2—4, 7, 8, 11, 13, 14, 17—19, 22]. Особенностью пула жирных кислот губок является то, что он включает компоненты, синтезированные как самой губкой, так и ее внутриклеточными симбионтами [1—3, 5, 7, 9—12].

\* Работа выполнена при частичной финансовой поддержке проектов РФФИ № 14-04-00838 А, 14-05-00516, 14-44-04165 р\_сибирь\_a, и бюджетных проектов №VI.51.10, V.46.5.2.

Целью исследований являлось изучение особенностей изменения состава липидов у байкальской эндемичной губки *Lubomirskia baicalensis* при повышении естественной температуры среды ее обитания.

**Материал и методика исследований.** В качестве объекта исследований был использован достаточно распространенный эндемичный вид — крупная ветвистая губка *Lubomirskia baicalensis* Pallas, обитающая в Байкале на глубине от 4 до 50 м [6]. Губки были собраны в августе с 15-метровой глубины в южной части оз. Байкал. Во время сбора проб температура воды была +4°C. Постановка модельных экспериментов по инкубации губок была проведена в условиях экспериментальных аквариумных установок пресноводного комплекса ЛИИ СО РАН, в данной работе приводятся полные данные по экспериментам с губкой *L. baicalensis*.

Губки были адаптированы по отработанной ранее методике [1, 4]. Анализ липидных компонентов клеток губок был проведен с помощью газового хроматографа Agilent 6890 с квадрупольным масс-спектрометром MSD 5973N в качестве детектора, с использованием колонки HP-5MS с внутренним диаметром 0,25 мкм. Газ-носитель — гелий (постоянный поток 1,5 мл/мин). Температура колонки: 90°C (изотерма 4 мин), 90—165°C (30°C/мин), 165—225°C (3°C/мин, изотерма 10,5 мин); температура испарителя — 250°C. Качественный анализ основан на сравнении времени удерживания и полных масс-спектров соответствующих чистых соединений с использованием библиотеки данных NIST14.L и стандартных смесей (Bacterial Acid Methyl Esters (CP Mix, Supelco, Bellefonte, PA, USA).

### Результаты исследований и их обсуждение

В составе липидных компонентов губки *L. baicalensis* в условиях эксперимента с искусственно повышенной температурой среды было обнаружено и идентифицировано 59 компонентов разной химической природы — жирные кислоты (ЖК), альдегиды, стерины. При исследовании образцов губки *L. baicalensis* из естественной среды обитания выявлено 55 индивидуальных компонентов. Соотношение насыщенных и ненасыщенных (моноеновых и полиеновых) кислот составляет 20,5 : 79,5, или, приблизительно, 1 : 4. Это соотношение присуще всем исследованным байкальским губкам [1, 3, 12, 16]. Отличительными особенностями пула жирных кислот у *L. baicalensis* является высокое содержание эйкозапентаеновой (20:5 n-3) и гексакозатриеновой (26:3 Δ5,9,19) кислот. Количественное содержание этих двух кислот отличает *L. baicalensis* от других байкальских губок, имеющих симбиотические водоросли, и сближает ее с губкой *Swartschewskia papyracea* (Dybowski), хотя кислоты 26:3 Δ5,9,19 у нее в 2 раза меньше. Из всех видов как пресноводных, так и морских губок такое количество эйкозапентаеновой кислоты встречается только у *Latrunculia brevis* Ridley, Dendy, которая так же относится к классу Demospongiae. Следовательно, недостаток предшественников простагландинов у губок компенсируется кислотами растительного происхождения, которые синтезируют симбиотические водоросли. Это главным образом линолевая и линоленовая кислоты и их изомеры. В таблице приведены компоненты липидной фракции, относительное количество которых составляет более 0,1%.

1. Состав липидных компонентов в губке *Lubomirskia baicalensis*, отн.%

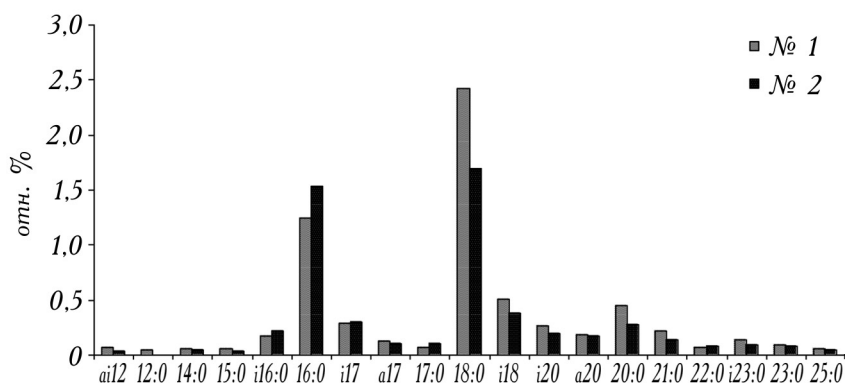
Компоненты	$t^{\circ} + 10^{\circ}\text{C}$	$t^{\circ} + 5^{\circ}\text{C}$
Жирные кислоты		
i16:0	0,17 ± 0,01	0,22 ± 0,01
16:0	1,25 ± 0,03	1,54 ± 0,02
i17	0,29 ± 0,01	0,30 ± 0,01
a17	0,13 ± 0,01	0,10 ± 0,00
17:0	0,07 ± 0,00	0,10 ± 0,00
18:0	2,42 ± 0,02	1,70 ± 0,01
i18	0,51 ± 0,05	0,38 ± 0,02
i20	0,26 ± 0,01	0,20 ± 0,01
a20	0,18 ± 0,01	0,17 ± 0,01
20:0	0,45 ± 0,02	0,28 ± 0,01
21:0	0,22 ± 0,01	0,14 ± 0,01
i23:0	0,14 ± 0,01	0,09 ± 0,00
10Me17	0,69 ± 0,02	0,79 ± 0,02
2h15	0,35 ± 0,01	0,34 ± 0,02
1h18:0	0,10 ± 0,01	1,49 ± 0,03
1h20:0	0,10 ± 0,00	0,04 ± 0,00
1h22:0	0,20 ± 0,01	0,11 ± 0,00
14:1d11	0,23 ± 0,01	0,14 ± 0,00
15:1	0,11 ± 0,00	0,12 ± 0,00
16:1d7	0,11 ± 0,00	0,11 ± 0,00
16:1d11	0,09 ± 0,00	0,11 ± 0,00
i17:1	0,42 ± 0,03	0,12 ± 0,01
18:1d9	2,61 ± 0,05	3,50 ± 0,04
18:1d11c	0,69 ± 0,01	0,71 ± 0,02
18:1d11t	0,30 ± 0,01	0,22 ± 0,01
20:1d9	0,11 ± 0,00	0,10 ± 0,00
22:1	0,11 ± 0,00	0,11 ± 0,00
24:1	0,17 ± 0,01	0,18 ± 0,01
18:2	0,58 ± 0,06	0,77 ± 0,06
25:3	0,78 ± 0,04	0,93 ± 0,04
26:2	0,65 ± 0,03	0,58 ± 0,02
26:3	18,84 ± 0,23	21,47 ± 0,26

Продолжение табл.

Компоненты	$t^{\circ} + 10^{\circ}\text{C}$	$t^{\circ} + 5^{\circ}\text{C}$
Альдегиды		
16a	0,00	0,26 ± 0,01
i17a	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01
a17a	0,20 ± 0,01	0,18 ± 0,01
18a	0,10 ± 0,00	0,09 ± 0,00
22:1a	0,15 ± 0,01	0,21 ± 0,01
24:1a	0,38 ± 0,01	0,35 ± 0,01
24:1d11a	8,50 ± 0,15	8,26 ± 0,12
Стерины		
холеста-3,5-диен	0,47 ± 0,03	0,26 ± 0,01
холестерил хлорид	3,52 ± 0,07	2,94 ± 0,04
холестерин	25,92 ± 0,11	23,92 ± 0,09
холест-5,24-диен	3,37 ± 0,09	2,74 ± 0,06
эргостерол	3,05 ± 0,05	2,93 ± 0,05
сигмастерол	2,31 ± 0,07	2,37 ± 0,07
b-ситостерол	12,39 ± 0,14	12,03 ± 0,13
Σ НЖК	6,60	4,10
Σ МНЖК	5,00	5,50
Σ ПНЖК	20,60	23,60
Σ Альдегиды	9,50	9,50
Σ Стерины	51,00	47,20

**Жирнокислотный состав.** Было обнаружено и идентифицировано 43 ЖК различной степени ненасыщенности (таблица, рис. 1—4), Содержание ЖК в исследуемых губках составило 32,40 и 33,30 отн. %. Выявлено, что насыщенные ЖК в губке № 1, которая содержалась при температуре +10°C, составили 6,60%, а ПНЖК — 20,60%, тогда как в губке № 2, которая содержалась при температуре +5°C — соответственно 4,10 и 23,60%. Содержание МНЖК в исследуемых образцах сравнительно близкое и составляет 5,00—5,50%.

**Насыщенные жирные кислоты.** В липидах губок обнаружен ряд НЖК от С12 до С25 (см. рис. 1), среди которых доминирующими являются пальмитиновая 16:0 (1,30 и 1,50%) и стеариновая 18:0 (2,40 и 1,70%) кислоты, которые играют важную роль в формировании основного пула жирных кислот в организме. Эти кислоты доминируют у большинства морских губок [8, 9]. Выявлено незначительное количество разветвленных ЖК; их содержание

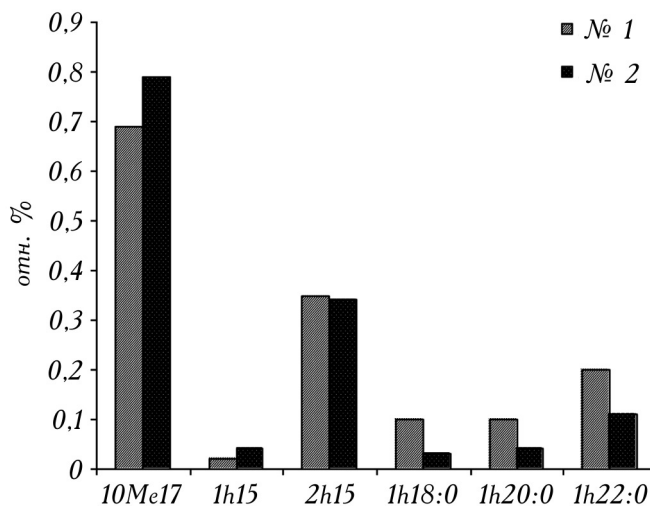


1. Среднее содержание насыщенных ЖК в губках *Lubomirskia baikalensis*.

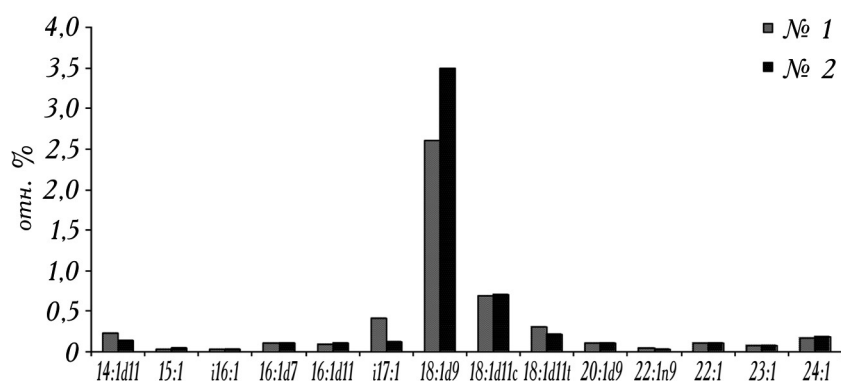
варьировало от 0,03 до 0,51 отн. %, суммарное содержание составило 3,1 отн. %. В исследуемых губках обнаружена редкая кислота i23:0. Пресноводные губки, также как и морские, содержат большое разнообразие изо- и антеизо-кислот; длинноцепочечные ЖК изо- и антеизо-строения, вероятно, синтезируются собственно губкой путем элонгации изо- и антеизо-предшественников бактериального происхождения с более короткими углеводородными цепями [3, 5, 12, 15, 16].

Короткоцепочечные C15:1—C20:1d9 монометилзамещенные ЖК, вероятно, синтезируются бактериями и наиболее характерны для бактериальных симбионтов демоспонгиевых губок. В исследуемых образцах губок определена кислота 10Me17 с содержанием 0,80 и 0,90 отн. % (см. рис. 2). Найдено пять насыщенных гидроксикислот бактериального происхождения — оксипентадекановая (1h15), 2-оксипентадекановая (2h15), оксипальмитиновая (1h18), оксидокозановая (1h20) и оксидокозановая (1h22).

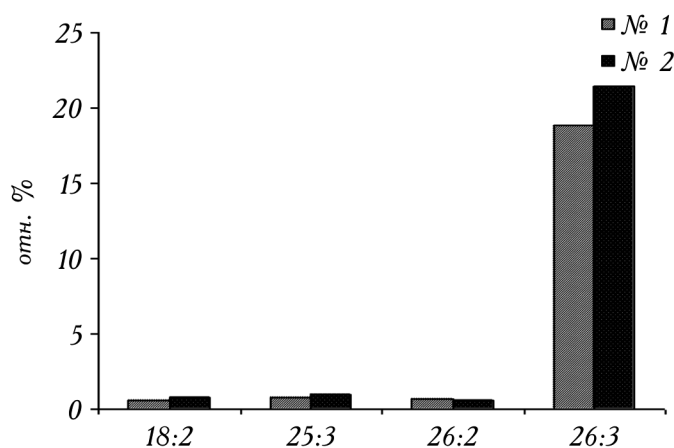
**Ненасыщенные жирные кислоты.**  
**Мононенасыщенные ЖК.** Исследуемые образцы губок содержат 5,00 и 5,50% МНЖК. Среди моноеновых кислот доминирующими являются изомеры 18:1 кислоты (см. рис. 3). Главными изомера-



2. Среднее содержание ЖК с функциональными группами в губках *Lubomirskia baikalensis*.



3. Среднее содержание мононенасыщенных ЖК в губках *Lubomirskia baikalensis*.

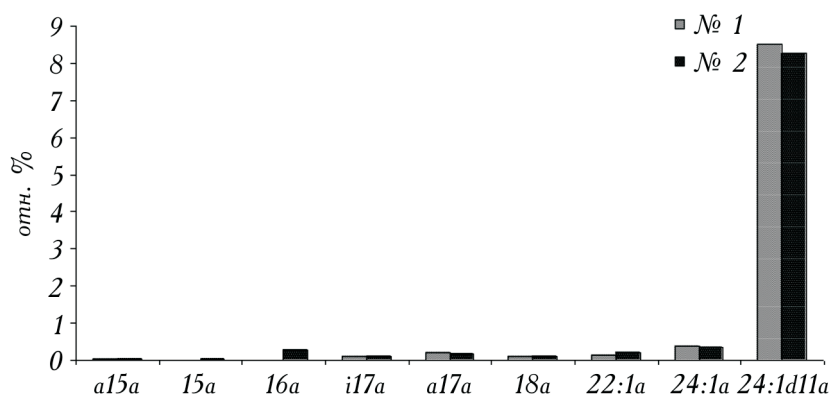


4. Среднее содержание полиненасыщенных ЖК в губках *Lubomirskia baikalensis*.

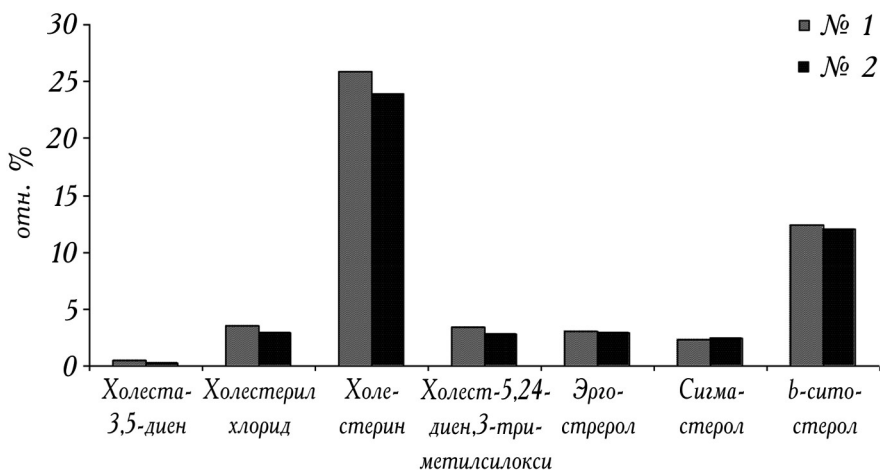
ми моноеновых ЖК С18 в губках являются олеиновая 18:1d9 и цис-вакценовая 18:1d11 кислоты, причем доминирует 18:1d9. Относительное содержание этой ЖК достигает соответственно 2,60 и 3,50% суммарных ЖК. В морских губках, напротив, основными являются изомеры кислоты 16:1 [8,9], причем доминирует пальмитолеиновая кислота 16:1d9. Однако исследуемые нами губки содержат

только изомеры d7 и d11, и их содержание невысоко — около 0,10 отн. %. Мононенасыщенные ЖК С20—С24 также обнаружены в исследуемых образцах губок. Их содержание ниже, чем С18 МНЖК. Длинноцепочечная мононенасыщенная кислота 24:1 обнаружена в незначительном количестве — около 0,20%.

**Полиненасыщенные жирные кислоты.** Содержание ПНЖК в исследуемых образцах гораздо выше, чем НЖК, и составляет соответственно 20,60 и 23,60%. Основной вклад в сумму ПНЖК вносит демоспонгиевая сверхдлинноцепочечная кислота 26:3 с содержанием 18,80 и 21,50% (см. рис. 4). Вклад остальных обнаруженных сверхдлинноцепочечных демоспонгиевых кислот 25:3 и 26:2 составляет от 0,60 до 0,90%. Содержание линолевой кислоты 18:2 невысокое (0,60 и 0,80%). Ранее было выявлено, что высокое содержание полиненасыщенных С16 и С18 ЖК в пресноводных губках *Baikalospongia baci-*



5. Среднее содержание альдегидов в губках *Lubomirskia baikalensis*.



6. Среднее содержание стероидов в губках *Lubomirskia baikalensis*.

*lifera* и *L. baikalensis* из оз. Байкал связано с присутствием симбиотических микроводорослей — продуцентов этих кислот [16].

**Альдегиды.** Определено девять различных альдегидов (рис. 5). Анализ липидной фракции показал, что в губках содержится в среднем около 9,50% суммарных альдегидов, среди которых доминирует сверхдлинноцепочечный альдегид 11-тетракозеналь (I) 24:1d11a, составляющий 8,30—8,50% от суммы альдегидов. Ранее в общих липидах эндемичной губки *L. baikalensis* обнаружен и выделен сверхдлинноцепочечный альдегид 17-цис-тетракозеналь, который является главным сверхдлинноцепочечным альдегидом в байкальских губках *B. bacilifera* [12]. Количество остальных альдегидов достигает 0,40%.

**Стерины.** Обнаружено семь стеринов, они составляют 51,00 и 47,20% от суммы всех липидных компонентов (рис. 6). Основными компонентами стеринов во всех исследуемых образцах являются холестерин (25,90 и 23,90% суммарных стеринов) и *b*-ситостерол (12,40 и 12,00% суммарных стеринов). В животном царстве холестерин является главным стериновым компонентом клеточных мембран [10, 17, 18]. Многие исследователи биохимических особенностей губок предполагают, что особенности фракций свободных стеринов следует связывать с адаптацией к мембранолитическому действию собственных токсинов, а включение в клеточные мембраны необычных стеринов делает мембраны вида менее чувствительными к воздействию своих мембранолитиков [17, 18, 21]. Незначительное содержание холестерил хлорида, холеста-5,24-диена, эргостерола и сигмастерола составило от 2,30 до 3,50% общей суммы. Количество холеста-3,5-диена составляет менее 1,00%.

### Заключение

Проведенные исследования выявили, что губка *Lubomirskia baikalensis* способна изменять состав ЖК и быстро восстанавливать прежний пул ЖК после стабилизации условий среды. Однако это не означает, что исследованные образцы обладают повышенной устойчивостью к изменению среды. Здесь можно говорить лишь о том, что мы имеем очень чувствительный естественный «прибор», фиксирующий наличие адаптивных возможностей у байкальских губок, показания которого мы можем снимать и обрабатывать очень быстро, то есть «экспрессным методом».

Выявленные качественные и количественные изменения липидного состава губки могут быть связаны с различной стратегией восполнения энергетических затрат в условиях температурного стресса, что зависит от разного набора внутриклеточных симбионтов и видовой специфичности самих губок.

Полученные результаты позволили наметить основные направления, которые необходимо разрабатывать для более полного научного познания байкальских губок и практического применения возможных результатов в плане рационального использования уникальных водных экосистем Байкальского бассейна.

\*\*

*Проведено сравнение изменчивости состава липидной фракции (жирные кислоты, альдегиды, стерины) у байкальской эндемичной губки *Lubomirskia baikalensis* Pallas. Обсуждаются особенности изменчивости липидного состава губки при повышении температуры воды, как средства адаптации и регуляции симбиотических отношений в сообществах эндемичных губок оз. Байкал.*

\*\*

*Проведено порівняння мінливості складу ліпідної фракції (жирні кислоти, альдегіди, стерини) у байкальської ендемічної губки *Lubomirskia baikalensis* Pallas. Обговорюються особливості мінливості ліпідного складу губки при підвищенні температури води, як засобу адаптації та регуляції симбіотичних відносин у групуваннях ендемічних губок оз. Байкал.*

\*\*



1. Глызин А.В., Глызина О.Ю., Любочко С.А. Изучение байкальских гидросимбионтов с помощью экспериментальных аквариумных установок // Вода: химия и экология. — 2011. — № 2. — С. 35—40.
2. Глызина О.Ю., Базарсагуева С.В., Глызин А.В., Рагнаева Л.Д. Изменение липидного состава пресноводных губок при повышении температуры среды обитания // Экология. — 2016. — № 2. — С. 152—155.
3. Глызина О.Ю., Глызин А.В. Биохимический ответ древнейших симбиотических многоклеточных оз. Байкал на изменение температурного режима среды их обитания // Вода: химия и экология. — 2014. — № 1. — С. 71—79.
4. Глызина О.Ю., Глызин А.В., Барам Г.И., Латышев Н.А. Индикаторы жизненного состояния байкальской губки при содержании в аквариумах с использованием масс-спектрометрии и жидкостной хроматографии // Там же. — 2007. — № 15. — С. 659—662.
5. Дембицкий В.М. Жирнокислотный состав пресноводных губок класса Demospongiae из оз. Байкал. II. Род *Swartchewskaia* и *Baicalospongia* // Химия природ. соед. — 1981. — № 4. — С. 513—515.
6. Ефремова С.М., Тимошкин О.А., Ситникова Т.Я. и др. Губки (Porifera). Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна. Т. I Озеро Байкал. Книга 1. — Новосибирск: Наука, 2001. — С.180—198.
7. Жукова Н.В. Жирные кислоты морских организмов: таксономические и трофические маркеры : Автореф. дис. ... докт. биол. наук. — Владивосток, 2009. — 31 с.
8. Родькина С.А. Жирные кислоты и другие липиды морских губок // Биол. моря. — 2005. — Т. 31, № 6. — С. 387—397.
9. Родькина С.А., Латышев Н.А., Имбс А.Б. Жирные кислоты губки *Haltichondria patsea* из Японского моря // Биоорган. химия. — 2003. — Т. 29, № 4. — С. 419—424.
10. Санталова Е.А. Структурное изучение стероидов и некоторых сопутствующих токсинов морских губок: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. — Владивосток, 2005. — 22 с.
11. Суцук Н.Н. Жирные кислоты как маркеры трофометаболических взаимодействий в пресноводных экосистемах: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. — Красноярск, 2006. — 24 с.
12. Dembitsky V.M., Rezanka T., Srebnik M. Lipid compounds of freshwater sponges: family *Spongillidae*. class *Demospongiae* // Chem. Phys. Lipids. — 2003. — Vol. 123, N 2. — P. 117—155.
13. Gladyshev M.I., Sushchik N.N., Dubovskaya O.P. et al. Fatty acid composition of Cladocera and Copepoda from lakes of contrasting temperature // Freshwater Biol. — 2015. — N 60. — P. 373—386.
14. Imbs A.B., Latyshev N.A. New  $\Delta^5$  and  $\Delta^4$  unsaturated medium- and long-chain fatty acids in the freshwater sponge *Baicalospongia bacilifera* // Chem. Phys. Lipids. — 1998. — Vol. 92, N 2. — P. 117—125.
15. Imbs A.B., Yakovleva I.M. Dynamics of lipid and fatty acid composition of shallow-water corals under thermal stress: an experimental approach // Coral. Reefs. — 2012. — Vol. 31, N 1. — P. 41—53.

16. *Käkelä R., Mattila M., Hermansson M. et al.* Seasonal acclimatization of brain lipidome in a eurythermal fish (*Carassius carassius* L.) is mainly determined by temperature // Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. — 2008. — Vol. 294. — P. 1716—1728.
17. *Latyshev N.A., Zhukova N.V., Efremova S.M. et al.* Effect of habitat on participation of symbionts in formation of the fatty acid pool of fresh-water sponge of Lake Baikal // Comp. Biochem. Physiol. Ser. B. — 1992. — Vol. 102, N 4. — P. 961—965.
18. *Medeot D., Bueno M., Dardanelli M., Garcia de Lema M.* Adaptational changes in lipids of *Bradyrhizobium*\* SEMIA 6144 nodulating peanut as a response to growth temperature and salinity // Curr. Microbiol. — 2007. — Vol. 54. — P. 31—35.
19. *Santalova E.A., Makarieva T.N., Ponomarenko L.P. et al.* Sterols and related metabolites from five species of sponges // Biochem. System. Ecol. — 2007. — Vol. 35, Fasc. 7. — P. 439—446.
20. *Temperature adaptation of biological membranes* / Ed. by A. R. Cossins. — London: Portland Press, 1994. — P. 1—227.
21. *Velansky P.V., Kostetsky E.* Thermoadaptation and fatty acid composition of main phospholipids of the smallscaled redbfin *Tribolodon brandti* under natural and experimental conditions // Russ. J. Mar. Biol. — Vol. 35. — P. 416—421.
22. *Zager R. A.* Plasma membrane cholesterol: a critical determinant of cellular energetics and tubular resistance to attack // Kidney Intern. — 2000. — N 58. — P. 193—205.

<sup>1</sup> Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, РФ

<sup>2</sup> Байкальский институт природопользования  
СО РАН, Улан-Удэ, РФ

<sup>3</sup> Бурятский государственный университет,  
Улан-Удэ, РФ

Поступила 31.05.16