ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2528
https://elibrary.ru/MZEMQB

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Сезонная динамика липидов тканей двустворчатого моллюска *Cerastoderma glaucum* псевдолиторальной зоны

А. В. Бородина[1,*], К. А. Пименов[1], Ю. О. Веляев[2], А. Р. Осокин[2]

[1] *Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия*

[2] *Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия*

Поступила в редакцию: 13.11.2023
Принята после рецензирования: 08.12.2023
Принята к публикации: 09.01.2024

**А. В. Бородина: borodinaav@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-8468-8372*
К. А. Пименов: https://orcid.org/0009-0008-4516-6924
Ю. О. Веляев: https://orcid.org/0000-0003-0372-2458
А. Р. Осокин: https://orcid.org/0009-0003-5962-1899

© А. В. Бородина, К. А. Пименов, Ю. О. Веляев, А. Р. Осокин, 2024

Аннотация.
Двустворчатый моллюск *Cerastoderma glaucum* является обитателем псевдолиторали. Исследования его липидов и механизмов адаптации представляют интерес с точки зрения потенциально промыслового объекта аквакультуры. Цель работы заключается в изучении динамики в течение года общих липидов, фосфолипидов, моноглицеридов, диглицеридов и стеролов, свободных жирных кислот, триацилглицеридов и анализ состава жирных кислот *C. glaucum*, псевдолитеральной зоны верховья бухты Казачья, г. Севастополя.
Моллюски *C. glaucum*, были собраны в течение зимы, весны и осени 2021–2022 гг. Рассматривали три вида тканей: жабры, ногу и гепатопанкреас. При определении общих липидов, разделении их на классы и исследовании жирных кислот использовали ком плексный методический подход.
Общий уровень липидов у моллюска составлял 2,4–15,1 г/100 г сырого веса ткани. В течение года динамика общих липидов в тканях ноги и жабр менялась от самых высоких значений весной (9,6 ± 1,6 и 4,9 ± 1,9 г/100 г сырого веса соответственно) до минимальных осенью 5,5 ± 0,5 и 2,5 ± 0,4 г/100 г сырого веса. В гепатопанкреасе общий уровень липидов достиг максимума зимой и минимума осенью 19,4 ± 1,9 и 2,9 ± 0,4 г/100 г сырого веса. В зимний период во всех тканях отмечали существенное снижение уровня триацилглицеридов. Состав жирных кислот в сумме всех тканей представлен 23 видами, среди которых 9 – насыщенных 35–40 %, 8 – мононенасыщенных 15–34 % и 6 – полиненасыщенных 5,8–29 %, относящихся к семействам омега-3, 5, 6, 7, 9, 11, 13. Среди доминирующих жирных кислот отмечены пальмитиновая и олеиновая.
Сезонная динамика липидов в тканях ноги, жабр и гепатопанкреаса имела свои общие закономерности: весной наблюдались наиболее высокие значения общих липидов и равномерное распределение структурных и запасных липидов, осенью и зимой – снижение общих липидов, которое сопровождалось увеличением доли структурных липидов. Обнаруженные отличия в составе жирных кислот *C. glaucum* от видового аналога из других регионов связаны с особенностями обитания в псевдолиторальной зоне.

Ключевые слова. Общие липиды, классы липидов, жирные кислоты, двустворчатые моллюски, сезонность, церастодерма

Финансирование. Работа выполнена по теме № 121041400077-1 государственного задания ФИЦ ИнБЮМ РАН “Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты существования гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом”. В работе использовано оборудование НИЛ «Молекулярная и клеточная биофизика» Института перспективных исследований ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет».

Для цитирования: Сезонная динамика липидов тканей двустворчатого моллюска *Cerastoderma glaucum* псевдолиторальной зоны / А. В. Бородина [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 3. С. 558–570. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2528

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2528
https://elibrary.ru/MZEMQB

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

Seasonal Dynamics of Tissue Lipids in Bivalve Mollusk *Cerastoderma glaucum* of Supralittoral Zone

Alexandra V. Borodina[1,*], Konstantin A. Pimenov[1], Yuri O. Velyaev[2], Alexander R. Osokin[2]

[1] *Kovalevsky Institute of Biology of Southern Seas, Russian Academy of Sciences, Sevastopol, Russia*

[2] *Sevastopol State University, Sevastopol, Russia*

Received: 13.11.2023
Revised: 08.12.2023
Accepted: 09.01.2024

**Alexandra V. Borodina: borodinaav@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-8468-8372*
Konstantin A. Pimenov: https://orcid.org/0009-0008-4516-6924
Yuri O. Velyaev: https://orcid.org/0000-0003-0372-2458
Alexander R. Osokin: https://orcid.org/0009-0003-5962-1899

© A.V. Borodina, K.A. Pimenov, Yu.O. Velyaev, A.R. Osokin, 2024

Abstract.
Cerastoderma glaucum is a bivalve mollusk that inhabits the supralittoral zone of the Black Sea. It is a potential object of commercial aquaculture, which makes its lipid profile and adaptation mechanisms a prospective research topic. The authors analyzed the annual patterns in total lipids, phospholipids, polyglycerides, diglycerides, sterols, free fatty acids, and triacylglycerides to obtain the fatty acid profile of *C. glaucum*, harvested from the supralittoral zone of the upper Kazachya Bay, Sevastopol, Russia.
The mollusks were collected in the winter, spring, and autumn of 2021–2022. This research featured their gills, foot, and hepatopancreas. An integrated methodological approach was used to determine total lipids, classify them, and study fatty acids. The total lipid level was 2.4–15.1 g/100 g raw weight. During the year, the dynamics of total lipids in the tissues of foot and gills varied from the highest values in the spring (9.6 ± 1.6 and 4.9 ± 1.9 g/100 g raw weight, respectively) to the lowest in the autumn (5.5 ± 0.5 and 2.5 ± 0.4 g/100 g raw weight, respectively). In the hepatopancreas, it peaked the winter and dropped in the autumn (19.4 ± 1.9 and 2.9 ± 0.4 g/100 g raw weight, respectively). In the winter, all tissue samples demonstrated a significant decrease in triacylglycerides. The composition of fatty acids and total lipids in all tissues included 23 types, i.e., nine saturated (35–40%), eight monounsaturated (15–34%), and six polyunsaturated (5.8–29%) from the families of omega-3, 5, 6, 7, 9, 11, and 13. Palmitic and oleic acids were among the dominant fatty acids.
Seasonal dynamics of lipids in the samples of foot, gills, and hepatopancreas of *C. glaucum* revealed some general patterns. In the spring, total lipids peaked while structural and storage lipids had a uniform distribution. In the autumn and winter, total lipids went down whereas structural lipids increased. The fatty acid profile of *C. glaucum* from the supralittoral zone of the Black Sea differed from those of the same species from other regions.

Keywords. Total lipids, lipid classes, fatty acids, bivalves, seasonality, cerastoderma

Funding. The research was part of State Assignment no. 121041400077-1: *Functional, metabolic, and toxicological aspects of hydrobionts and their populations in biotopes with different physical and chemical conditions* to Kovalevsky Institute of Biology of Southern Seas, Sevastopol. The experiments involved equipment of the Research Laboratory of Molecular and Cellular Biophysics, Institute of Advanced Research, Sevastopol State University, Sevastopol.

For citation: Borodina AV, Pimenov KA, Velyaev YuO, Osokin AR. Seasonal Dynamics of Tissue Lipids in Bivalve Mollusk *Cerastoderma glaucum* of Supralittoral Zone. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(3):558–570. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2528

Введение

Чёрное море относится к бесприливным морям, имеющим незначительную амплитуду приливно-отливных колебаний. Псевдолитораль располагается в границах колебания прибойных волн, верхняя граница проходит по верхнему краю максимального заплеска, а нижней границей является отсыпь пляжа [1]. Интерес к этим зонам моря, прежде всего связан с их малоизученностью с одной стороны, и высокой антропогенной нагрузкой с другой [1]. Сообщества гидробионтов, находящиеся в этой зоне, постоянно подвергаются наибольшей рекреационной нагрузке, частым перепадам абиотических факторов среды, в том числе температуры, особенно во время отлива, чтобы адаптироваться к таким пере-

менчивым экологическим условиям, пойкилотермные организмы, к которым относятся двустворчатые моллюски, должны обладать адаптивными механизмами, в которых важную роль выполняют липиды [2].

Липиды являются одним из классов природных соединений, важнейших для функционирования живых организмов. С точки зрения химического строения их можно отнести к веществам с четко выраженной химической структурой, в состав которых входят жирные кислоты и их производные. Общие липиды разделяют на классы, среди которых выделяют: триацилглицериды (или жиры), фосфолипиды, гликолипиды, стероиды, воска, терпены. Их строение позволяет формировать бислои в полярной среде, что сделало их важным компонентом клеточных мембран [3, 4]. Информация о содержании или изменении каждого класса в организме может дать важную информацию для исследователя, например, представление о состоянии мембран (фосфолипиды, гликолипиды и стерины) или о степени жирового запаса (триацилглицериды). Соотношение структурных и запасных липидов у моллюсков, обитающих в приливно-отливных зонах, когда они подвергаются краткосрочной аноксии во время отлива, отличается от того же вида моллюсков из литоральной зоны [2, 5]. Запасные липиды (в частности, триацилглицериды) используются моллюсками в качестве энергетического источника во время зимнего роста, когда запасы углеводов истощены, а весной – во время активного роста гонад. С интенсивностью обмена, при возрастании общих энергетических потребностей организма, вызванных активностью организма или повышением температуры окружающей среды, возрастает роль резервных энергетических веществ, в том числе нейтральных липидов (триацилглицеридов) [5]. Изучение структурных и запасных липидов моллюсков, обитающих в зоне заплеска воды, на протяжении их годового цикла, может выявить периоды, колебаний структурных и запасных липидов, показав особенности видов, обитающих в таких зонах. Подобные мониторинговые исследования, подчеркивающие роль липидов в процессах адаптации моллюсков, крайне редки [2].

В составе липидов, встречаются группы насыщенных, мононенасыщенных, полиненасыщенных жирных кислот, играющих важную роль в регулировании основных процессов в организме [6]. Следует отметить пищевую ценность группы омега жирных кислот (омега-3, омега-6 и омега-9). Морские двустворчатые моллюски обладают повышенным содержанием триацилглицеридов, полиеновых жирных кислот *n*-3 семейства [7]. Примером таких двустворчатых моллюсков могут быть широко распространенные как в Средиземном, так и в Чёрном морях моллюски *Cerastoderma glaucum* [8, 11, 12]. Этот вид моллюсков, распространенный на Севастопольском побережье Чёрного моря, имеет свои отличия по каротиноидному составу от видового аналога Средиземноморского и Атлантического регионов Мирового Океана [13]. Особенности и изменения в составе и содержании липидов у моллюсков из разных зон моря, могут быть вызваны не только возникновением факторов стресса (гипоксии, аноксии, сероводородного заражения и т. п.), изменением температуры, солености, но и изменением спектра питания в местах обитания [2, 5 ,7]. Помимо перечисленных факторов на моллюсков-фильтраторов могут оказывать влияние химические токсиканты, часть из которых являются следствием техногенного или антропогенного воздействия, например, пищевой мусор, топливо с морского транспорта и т. п. Компоненты этих загрязнителей могут аккумулироваться в гидробионтах или подвергаться дальнейшему распаду. Совокупность таких внешних факторов среды обитания в местах вылова промысловых видов двустворчатых моллюсков, может быть рассмотрена как критерий качества промысловой продукции, что находит отражение в ряде публикаций ученых средиземноморских стран [8–11]. Европейскими учеными было установлено, что жирные кислоты, входящие в состав *C. glaucum* могут выступать пищевыми маркерами места сбора этих моллюсков, в их составе были обнаружены жирные кислоты *n*-3, 5, 6, 7, 9 семейств [8–10]. О влиянии источников питания на накопления тех или иных жирных кислот в тканях мидий было отмечено в работах российских ученых [14]. Информация о липидах *C. glaucum* черноморского региона, независимо от глубины обитания, крайне ограничена [15].

Целью данной работы являлось сезонное исследование общих липидов, с последующим разделением их на классы (фосфолипиды, моноглицериды, диглицериды и стерины, свободные жирные кислоты, триацилглицериды), а также определение состава жирных кислот в тканях жабр, ноги и гепатопанкреаса) двустворчатого моллюска *C. glaucum* (Bruguière, 1789), псевдолиторальной зоны бухты Казачья Севастопольского побережья Чёрного моря.

Объекты и методы исследования

Объектом исследований являлся двустворчатый моллюск *Cerastoderma glaucum* (Bruguière, 1789), собранный в сублиторальной зоне бухты Казачья г. Севастополя.

Пробы моллюсков отбирали ежемесячно, с декабря по май включительно и с сентября по декабрь, охватывая три сезона: зима, весна и осень 2021–2022 гг. Летом, при повышенных свето-температурных условиях, транспортировка проб и пробоподготовка экстрактов моллюсков, а также проведение анализов были затруднены процессом окисления липидов. Поэтому летний сезон был исключен из исследований.

Каждый месяц отбирали по 5–7 особей, размером не менее 25–30 мм в длину раковины. Наиболее чувствительными к изменениям в среде обитания являются, в первую очередь, жабры, ноги и гепатопанкреас моллюска, поэтому исследования были сосредоточены

на этих трех тканях. Анализ общих липидов и классов липидов для каждой ткани особи проводили отдельно.

При проведении анализа общих липидов и их разделении на классы: фосфолипиды, моноглицериды, диглицериды, стерины, свободные жирные кислоты и триацилглицериды методом двумерной тонкослойной хроматографии, использовали комплексный методический подход подробно описанный ранее [15]. Фракции диглицеридов и стеринов были объединены ввиду их близкого расположения, которое иногда препятствовало их полному и четкому разделению. При проведении тонкослойной хроматографии использовали пластинки Sorbfil ПТСХ-АФ-А (Краснодар, Россия). Количественный анализ разделенных фракций липидов измеряли денситометрически с использованием сканера HP Scanjet 200 с последующей обработкой файлов с расширением jpg программой ТСХ менеджер 4.0.2.3D [15]. Количественное определение липидных фракций фосфолипидов, диглицеридов, стеринов, свободных жирных кислот, триацилглицеридов представлены в единицах измерения % от общих липидов. Статистическую обработку полученных результатов (описательная статистика, оценка коэффициентов корреляции, дисперсионный анализ) выполняли с применением программы Grapher 7. Все результаты сезонных исследований липидов и их классов представлены на рисунках 2 и 4, в виде диаграмм с указанием среднего значения и стандартной ошибки среднего (M ± SEM).

Хромато-масс-спектрометрическое исследование полученных образцов экстрактов общих липидов на содержание жирных кислот проводили в НИЛ «Молекулярная и клеточная биофизика» ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет» с использованием хроматографа Хроматэк-Кристалл 5000 с масс-спектрометрическим детектором. Пробоподготовка образцов заключалась в растворении липидного экстракта в 180 мкл диметилсульфоксида (ХЧ, АО «ЭКОС-1») и 20 мкл 25 % метанольного раствора тетраметиламмония гидроксида (ХЧ, Sigma-Aldrich), при перемешивании в течение 2 мин., с последующей обработкой 30 мкл йодметаном (ХЧ, Sigma-Aldrich). Полученную смесь выдерживали в течение 20 мин. при комнатной температуре, затем к ней добавляли гексан (ХЧ, АО «ЭКОС-1») и экстрагировали с помощью лабораторного шейкера ПЭ-6300 в течение 5 мин. Полученную жидкую фазу центрифугировали на центрифуге-вортексе Микроспин FV-2400 и гексановый экстракт, содержащий метилированные формы жирных кислот, переносили в виалу для проведения анализа. Объём вводимой в хроматограф пробы составлял 1 мкл. Разделение проводили на капиллярной колонке мл HP-5MS UI (Agilent) с неподвижной фазой 5 %-фенил-, 95 %-метилполисиликсан. Длина колонки – 30 м, внутренний диаметр – 0,25 мм, толщина неподвижной фазы – 0,25 мкм. В качестве газа-носителя использовали гелий марки 6,0, расход которого составлял 1 мл/мин. Температурный режим колонки – градиентный с начальной температурой 80 °С, изотермой 2,0 мин. и нагревом 5 °С/мин. до 280 °С. На испарителе деление потока соответствовало 20:1, температура 280 °С, а объём вводимой пробы был 1 мкл. Анализ проводили с использованием масс-спектрометрического детектора с электронной ионизацией (70 эВ) и температурой ионного источника 230 °С. Температура переходной линии составляла 280 °С. Полученный спектр регистрировали в диапазоне масс от 30 до 650 m/z. Для обработки, полученной хромато-масс-спектрометрической информации использовали программное обеспечение Хроматэк Аналитик 3.1 (сборка 3.1.2211.3), NIST MS Search v.2.66.121.82 и библиотека масс-спектров – NIST 2020 с базой данных от 2 июня 2020 года.

Результаты и их обсуждение

Общее содержание липидов в моллюске *Cerastoderma glaucum*, обитающим в псевдолиторальной зоне в течение года колебался в пределах 2,4–15,1 г/100 г сырого веса ткани (n = 15). Весной было установлено распределение общих липидов по тканям моллюска с учетом его массово-размерных характеристик (рис. 1). Наибольшая доля приходилась на ногу 32,9 ± 1,5 % и гепатопанкреас моллюска 29,30 ± 1,1 %, при $p < 0{,}01$ (рис. 1).

Содержание общих липидов в сумме мягких тканей всего моллюска *C. glaucum* было близким по значению, полученному турецкими исследователями [8]. Распределение общих липидов по тканям было сходным с другими двустворчатыми моллюсками, ведущими подвижный образ жизни, когда основными органами, накапливающими общие липиды, становятся гепатопанкреас и нога моллюска. Динамика содержания общих липидов (в г/100 г сырого веса ткани) в жабрах, ноге и гепатопанкреасе моллюска, и распределение классов липидов в течение 3-х сезонов (зимы, весны и осени), показаны на рисунках 2, 3, 4.

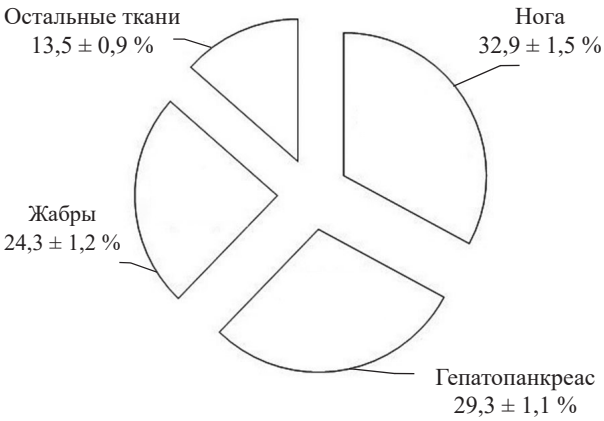

Рисунок 1. Доля общих липидов в тканях моллюска *C. glaucum* с учетом их массово-размерных характеристик.

Figure 1. Share of total lipids in *C. glaucum* based on weight and size

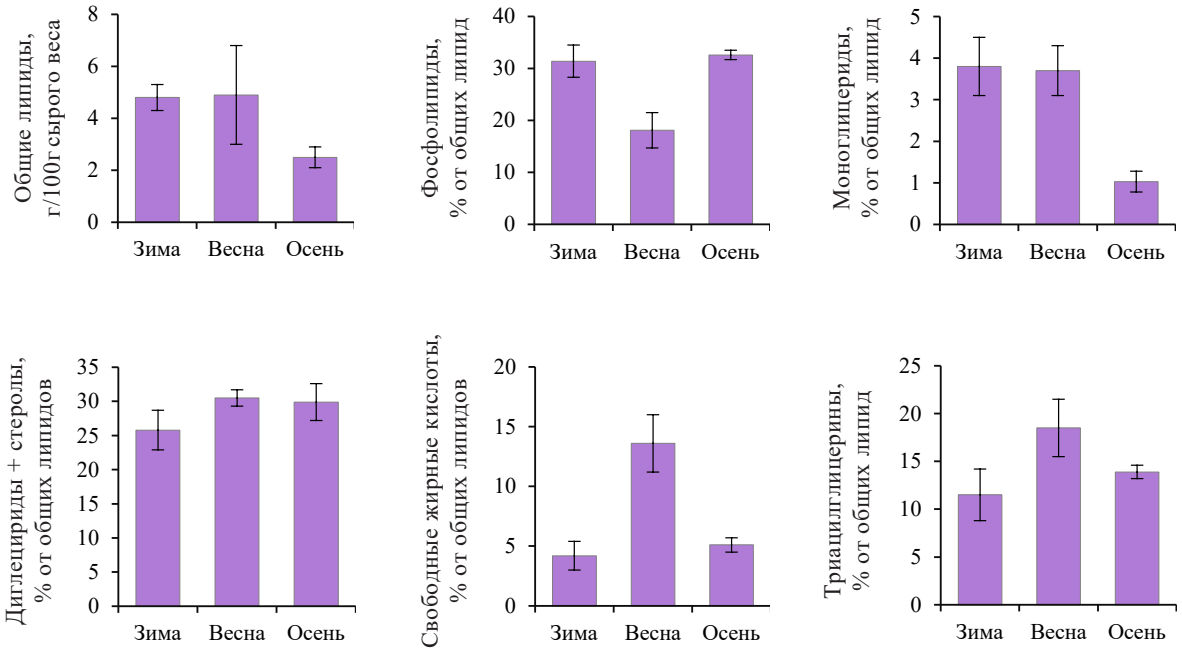

Рисунок 2. Трехсезонная динамика общих липидов, фосфолипидов, моноглицеридов, диглицеридов со стеринами, свободных жирных кислот и триацилглицеринов в жабрах моллюска *Cerastoderma glaucum*

Figure 2. Total lipids, phospholipids, monoglycerides, diglycerides with sterols, free fatty acids, and triacylglycerols in *C. glaucum* gill tissue: dynamics for winter, spring, and autumn

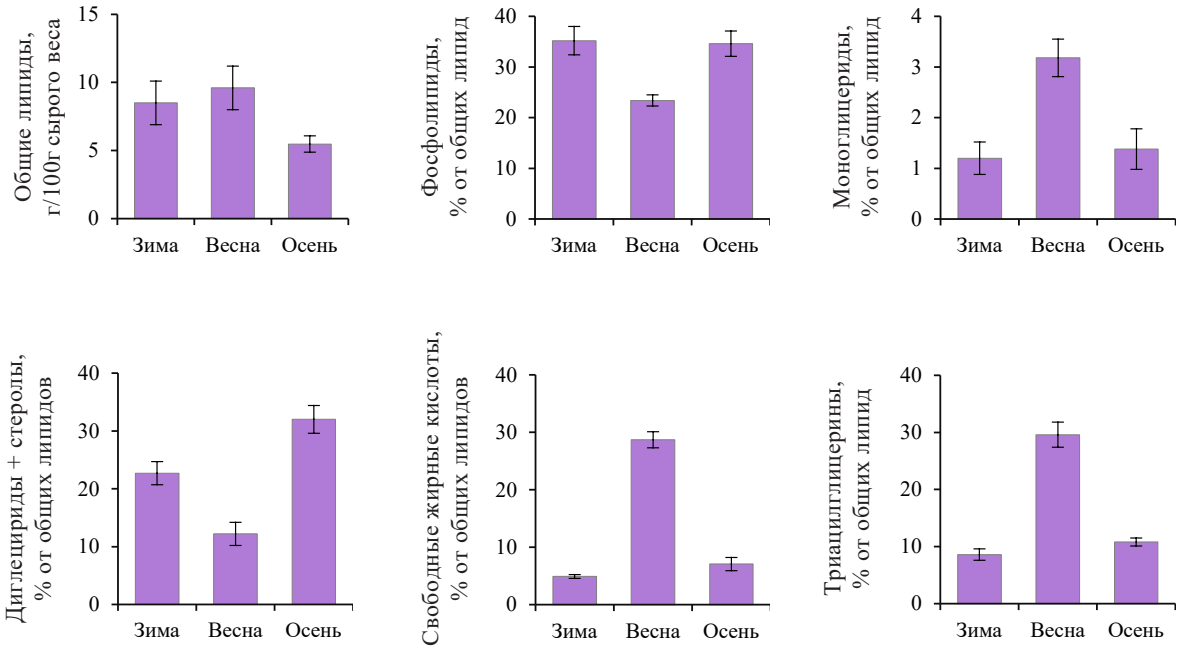

Рисунок. 3. Трехсезонная динамика общих липидов, фосфолипидов, моноглицеридов, диглицеридов со стеринами, свободных жирных кислот и триацилглицеринов в ноге моллюска *Cerastoderma glaucum*

Figure 3. Total lipids, phospholipids, monoglycerides, diglycerides with sterols, free fatty acids, and triacylglycerols in *C. glaucum* foot tissue: dynamics for winter, spring, and autumn

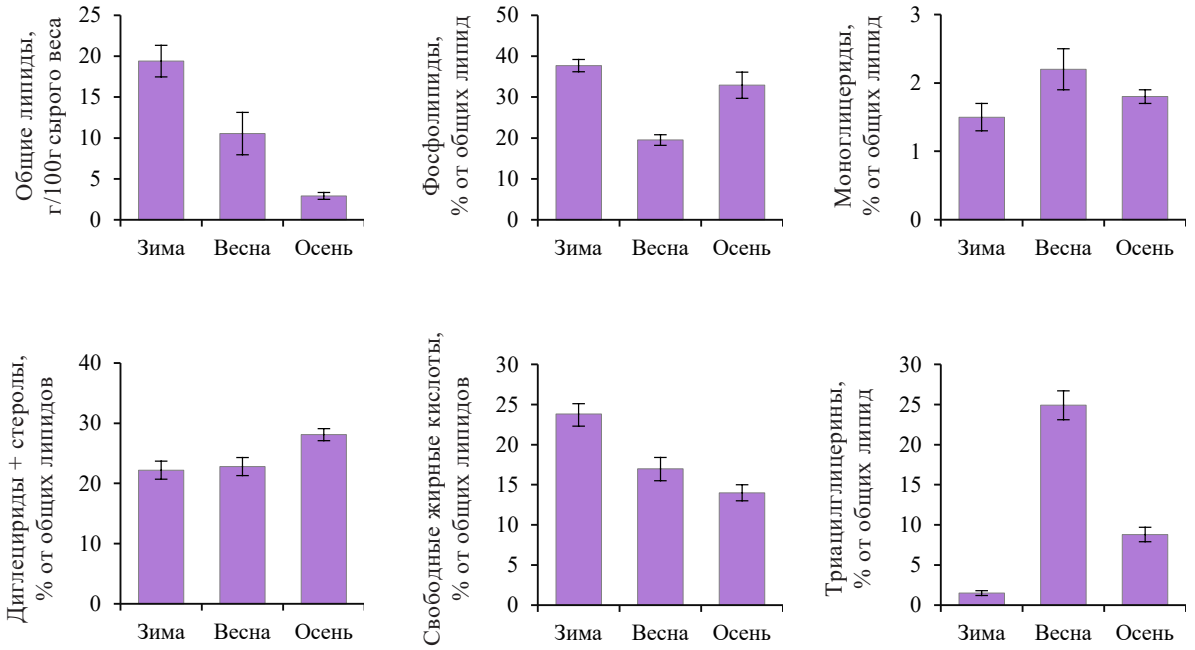

Рисунок 4. Трехсезонная динамика общих липидов, фосфолипидов, моноглицеридов, диглицеридов со стеринами, свободных жирных кислот и триацилглицеринов в гепатопанкреасе моллюска *Cerastoderma glaucum*

Figure 4. Total lipids, phospholipids, monoglycerides, diglycerides with sterols, free fatty acids, and triacylglycerols in *C. glaucum* hepatopancreas tissue: dynamics for winter, spring, and autumn

В жабрах моллюска содержание общих липидов зимой и весной были близкими по значению 4,8 ± 0,5 и 4,9 ± 1,9 г/100 г с. в., соответственно, при $p < 0{,}01$, и существенно выше, чем в осенний период 2,5 ± 0,4 г/100 г с. в. при $p < 0{,}01$ (рис. 2). Весной, в период массового развития фитопланктона и активного созревания гонад моллюсков, основная доля липидов в жабрах распределялась между диглицеридами и стеринами 30,5 ± 1,2 % от общих липидов, при $p < 0{,}01$, свободными жирными кислотами и триацилглицеридами 13,6 ± 2,4 и 18,5 ± 3,0 % от общих липидов, соответственно, при $p < 0{,}01$, за счет относительного снижения доли фосфолипидов 18,1 ± 3,4 % общих липидов, при $p < 0{,}01$ (рис. 2). В целом сезонная динамика структурных липидов в жабрах имела следующую направленность: максимумы фосфолипидов с диглицеридами и стеринами отмечены зимой и осенью, а весной наблюдалось увеличение доли триацилглицеридов, а также свободных жирных кислот.

В ноге моллюска максимальные значения общих липидов наблюдали зимой и весной 8,5 ± 1,6, при n = 17 и $p < 0{,}01$; 9,6 ± 1,6 г/100 г с. в., при n = 21 и $p < 0{,}01$, соответственно, осенью существенно ниже 5,5 ± 0,5 г/100 г с. в., при n = 17 и $p < 0{,}01$. В весенний период в ноге моллюска отмечено увеличение доли моноглицеридов, свободных жирных кислот и триацилглицеридов 3,2 ± 0,4; 30,6 ± 1,8; 29,6 ± 1,6 % от общих липидов, соответственно, при $p < 0{,}01$, на фоне относительного снижения уровня фосфолипидов 23,4 ± 1,1 % от общих липидов, при $p < 0{,}01$ и диглицеридов и стеринов 12,2 ± 2,0 % от общих липидов, при $p < 0{,}01$. Зимой и осенью в этой ткани наблюдалась обратная (весне) закономерность: снижение содержания доли моноглицеридов 1,2 ± 0,3 и 1,4 ± 0,4 % от общих липидов, при $p < 0{,}01$, свободных жирных кислот 4,9 ± 0,3 и 7,1 ± 1,1 % от общих липидов, при $p < 0{,}01$ и триацилглицеридов 8,6 ± 1,0 и 10,8 ± 0,7 % от общих липидов, при $p < 0{,}01$, на фоне относительного увеличения доли диглицеридов и стеринов 22,7 ± 2,0 и 32,0 ± 2,4 % от общих липидов, при $p < 0{,}01$ и фосфолипидов 35,2 ± 2,8 и 34,6 ± 2,5 % от общих липидов при, $p < 0{,}01$ (рис. 3).

В гепатопанкреасе моллюска динамика общих липидов достигает максимума зимой 19,4 ± 1,9 (г/100 г с. в., при $p < 0{,}01$), а в весенний и осенний периоды постепенно снижается (10,5 ± 2,6 и 2,9 ± 0,4 г/100 г с. в., соответственно, при $p < 0{,}01$. Зимой основную долю в общие липиды вносили фосфолипиды 37,7 ± 1,5, диглицериды и стерины 22,8 ± 1,5, свободные жирные кислоты 23,8 ± 1,3, на фоне низкого содержания триацилглицеридов 1,5 ± 0,3 % от общих липидов, при $p < 0{,}01$. Весной, с начала потепления и увеличения светового дня, смены спектра питания на более разнообразный, началом репродуктивного цикла, в гепатопанкреасе моллюска наблюдалось незначительное увеличение моноглицеридов, диглицеридов и стеринов 2,2 ± 0,3 и 22,8 ± 1,5 % от общих липидов, соответственно, при $p < 0{,}01$ и существенное увеличение доли

триацилглицеридов 24,9 ± 1,8 % от общих липидов, соответственно, при $p < 0,01$, на фоне снижения доли фосфолипидов и свободных жирных кислот 19,5 ± 1,3 и 17,0 ± 1,4 % от общих липидов, соответственно, при $p < 0,01$. Осенью, основной вклад в общие липиды вносили классы фосфолипидов, диглицеридов и стеринов 32,9 ± 3,2 и 28,1 ± 1,0 % от общих липидов, соответственно, при $p < 0,01$, на фоне относительного снижения моноглицеридов, свободных жирных кислот и триацилглицеридов 1,8 ± 0,1; 14,0 ± 1,0 и 8,8 ± 0,9 % от общих липидов, соответственно, при $p < 0,01$ (рис.4).

В течение года, динамика общих липидов в тканях жабр и ноги менялась, от самых высоких значений весной, до минимальных осенью, и постепенно снова восстанавливалась в зимний период, чтобы стать максимальной с потеплением и сменой пищевого спектра на более богатый рацион (рис. 2, 3). В более холодный сезон, зимой, во всех 3-х тканях наблюдалось максимальное снижение уровня запасных липидов (триацилглицеридов), что подробно объясняется на примере других моллюсков [2–4]. Относительный рост общих липидов в тканях происходил за счет структурных липидов. Весной, благодаря повышению температуры и смены рациона на более разнообразный (период весенней сукцессии фитопланктона), содержание общих липидов становится выше, чем зимой. Некоторое снижение общих липидов в гепатопанкреасе, можно объяснить метаболической нагрузкой на этот орган, распределяющий липиды, с учетом активного роста генеративной ткани.

Среди классов липидов, в течение годового цикла во всех тканях у *C. glaucum* доминировали структурные липиды, фракции фосфолипидов, диглицеридов и стеринов, что часто встречается у двустворчатых моллюсков в приливно-отливной зоне [2]. Среди сезонной динамики классов запасных и структурных липидов, особенно выделялся весенний период. В этот период отмечено наиболее равномерное их распределение во всех тканях. Весной мы также наблюдали повышенное содержание свободных жирных кислот, особенно в тканях ноги и жабр, что характерно для подвижных моллюсков в условиях увеличения температуры и смены спектра питания [6]. В этот период мы наблюдали относительное повышение уровня триацилглицеридов во всех тканях, а также наличие в составе жирных кислот 16:0 и 20:1*n*-7, может быть связано с возникновением компенсаторной реакции на уровне обмена липидов и активации общего метаболизма моллюсков *C. glaucum* при повышении температуры, ранее описанного у мидий [2, 5].

Осенью для всех тканей было характерно смещение накопления липидов в сторону фосфолипидов и диглицеридов, включая стерины (куда входит холестерин), которые занимали в сумме более 2/3 от общих липидов. В зимний период для всех тканей характерно существенное снижение уровня запасных липидов – триглицеридов, на фоне увеличения общих липидов. Этот эффект связан с наличием ответной реакции по механизму адаптации «гомеовязкости» с участием десатураз, компенсирующих влияние низких температур на вязкость мембран, описанный ранее на примере мидий Белого моря [2].

Тканеспецифичность особенно заметна на накоплении холестерина (группа диглицеридов и стеринов), свободных жирных кислот. Весной показатель диглицеридов и стеринов максимально количественно выражен в жабрах, чуть ниже его уровень в гепатопанкреасе, самый низкий – в ноге. Однако осенью эта группа липидов выравнивается по всем тканям, занимая почти треть от всех липидов, а вместе с фосфолипидами более 2/3 от общих липидов. Гепатопанкреас, как основной орган метаболических реакций и трансформаций липидов, а также их перераспределения, имел отличную от других тканей динамику липидов диглицеридов, стеринов и свободных жирных кислот по 3-м сезонам года. В этом органе отмечено самое низкое содержание запасных липидов зимой. Снижение уровня триацилглицеридов и эфиров холестерина может свидетельствовать об использовании их во время краткосрочной аноксии, в период отлива, в качестве дополнительного источника метаболической энергии [2, 5, 14]. Это было показано ранее на примере мидий из литоральной и сублиторальной зон Белого моря [17]. Моллюски, со сниженным уровнем запасных липидов, становятся более уязвимы к неблагоприятным условиям псевдолиторали, возможно, этот фактор вносил свой вклад в смертность этих моллюсков в данном сообществе за этот период.

Полный состав жирных кислот был изучен в период зимнего сезона. Результаты исследования состава жирных кислот пробы общих липидов представлены на рисунках 5 и 6 (в виде хроматограмм) и в таблице 1.

Из данных рисунка 5 и 6 видно, что проба липидного экстракта имеет многокомпонентный состав, содержащий большое количество примесных компонентов, большинство из которых относится к предельным алифатическим углеводородам, а также различным кремнийсодержащим соединениям. В исследуемой пробе встречаются представители детергентов и полициклических ароматических углеводородов.

Предельные алифатические углеводороды могут поступать в ткани моллюска из его среды обитания, что обусловлено влиянием различных сточных вод в прибрежной зоне, которая в г. Севастополе достаточно плотно освоена различным мореходным транспортом, как гражданского, так и военного назначения. Данный транспорт заправляется стандартным топливом, содержащим подобные компоненты, которые попадают в прибрежные воды и через фильтрующие органы двустворчатых моллюсков попадают в его ткани. Наличие кремнийсодержащих соединений по большей части обусловлено попаданием в пробу силиконов, из которых сделана септа виалы, что, вероятно, происходит при пробоотборе автосаплером хроматографа

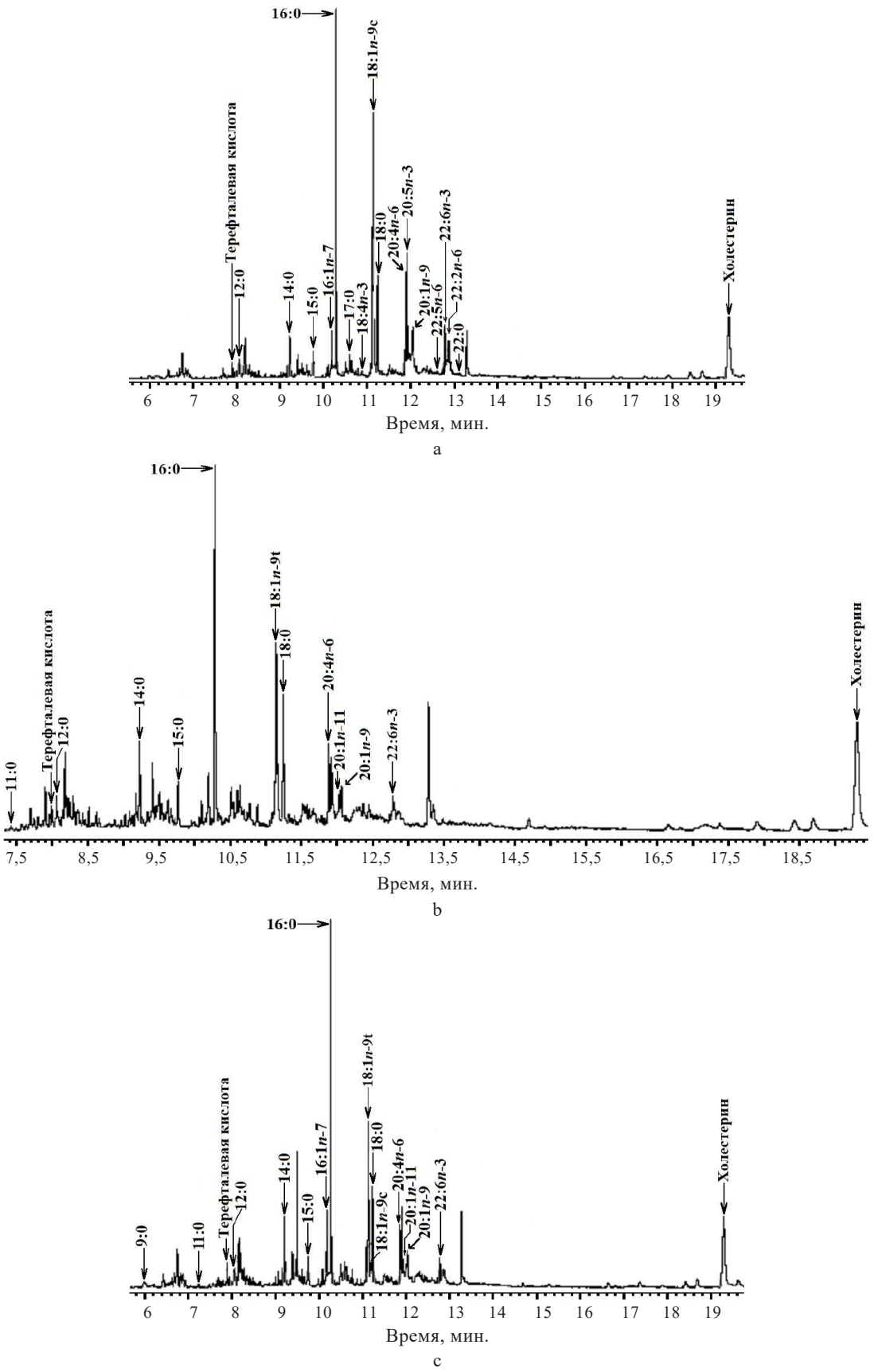

Рисунок 5. Хроматограммы жирных кислот общих липидов тканей моллюска *Cerastoderma glaucum*: а – жабры, б – нога, в – гепатопанкреас

Figure 5. Fatty acids of total lipids in *C. glaucum*, chromatograms: a – gills, b – foot, c – hepatopancreas

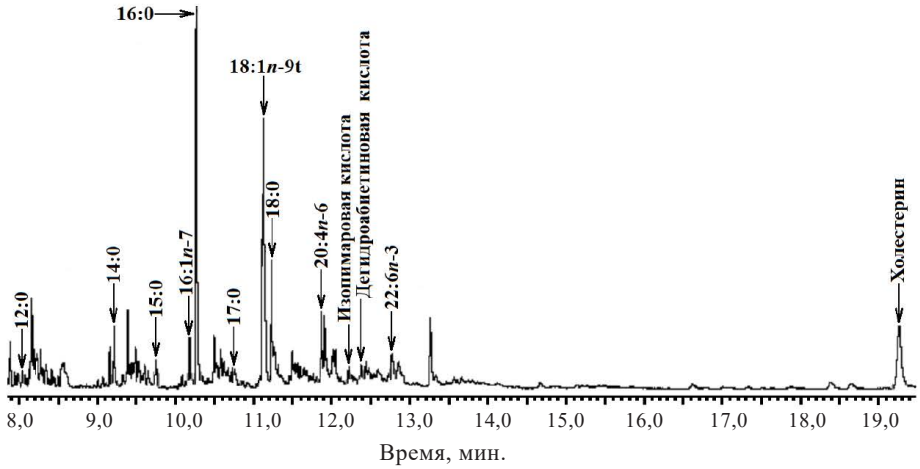

Рисунок 6. Хроматограммы жирных кислот общих липидов тканей моллюска *Cerastoderma glaucum* в сумме остальных тканей.

Figure 6. Fatty acids of total lipids in *C. glaucum*, chromatograms: other tissues

Таблица 1. Состав и содержание жирных кислот, обнаруженных в тканях моллюска *Cerastoderma glaucum*

Table 1. Composition and content of fatty acids in *C. glaucum*

Жирные кислоты	Доля жирных кислот в жабрах от общих липидов, %	Время выхода, мин	Доля жирных кислот в ноге от общих липидов, %	Время выхода, мин	Доля жирных кислот в гепатопанкреасе от общих липидов, %	Время выхода, мин	Доля жирных кислот в остальных тканях от общих липидов, %	Время выхода, мин
Пеларгоновая (9:0)	–	–	–	–	0,64 ± 0,01	5,982	–	–
Ундекановая (11:0)	–	–	0,50 ± 0,01	7,419	0,07 ± 0,00	7,408	–	–
Лауриновая (12:0)	1,13 ± 0,02	8,053	2,54 ± 0,05	8,060	1,46 ± 0,03	8,050	0,96 ± 0,02	8,050
Миристиновая (14:0)	2,56 ± 0,05	9,221	4,64 ± 0,09	9,229	4,21 ± 0,08	9,214	4,26 ± 0,09	9,214
Пентадекановая (15:0)	1,56 ± 0,03	9,763	3,33 ± 0,07	9,770	1,88 ± 0,04	9,755	1,82 ± 0,04	9,755
Пальмитиновая (16:0)	21,75 ± 0,44	10,279	19,45 ± 0,39	10,286	21,01 ± 0,42	10,275	24,75 ± 0,50	10,271
Маргариновая (17:0)	1,37 ± 0,03	10,766	–	–	–	–	1,74 ± 0,03	10,762
Стеариновая (18:0)	6,20 ± 0,12	11,239	7,37 ± 0,15	11,246	6,24 ± 0,12	11,232	6,82 ± 0,14	11,232
Бегеновая (22:0)	0,42 ± 0,01	13,099	–	–	–	–	–	–
НЖК	34,98 ± 0,70		37,82 ± 0,76		35,51 ± 0,71		40,35 ± 0,81	
11-Гексадеценовая (16:1*n*-5)	–	–	–	–	–	–	–	–
Пальмитолеиновая (16:1*n*-7)	3,23 ± 0,06	10,189	–	–	5,86 ± 0,12	10,182	3,31 ± 0,07	10,185
Цис-олеиновая (18:1*n*-9c)	7,80 ± 0,16	11,139	–	–	1,47 ± 0,03	11,196	–	–
Элаидиновая (18:1*n*-9t)	–	–	15,03 ± 0,30	11,142	17,59 ± 0,35	11,131	30,69 ± 0,61	11,131
Гондоевая (20:1*n*-9)	4,24 ± 0,08	12,035	2,75 ± 0,06	12,063	2,27 ± 0,05	12,052	–	–
Гадолеиновая (20:1*n*-11)	–	–	3,56 ± 0,07	12,035	3,06 ± 0,06	12,024	–	–
МНЖК	15,27 ± 0,31		21,34 ± 0,43		30,25 ± 0,61		34,00 ± 0,68	
Стеаридоновая (18:4*n*-3)	0,07 ± 0,01	10,927	–	–	–	–	–	–
Арахидоновая (20:4*n*-6)	6,30 ± 0,13	11,880	4,61 ± 0,09	11,888	3,04 ± 0,06	11,873	4,14 ± 0,08	11,873
Эйкозапентаеновая (20:5*n*-3)	9,62 ± 0,19	11,916	–	–	–	–	–	–
Цис-13,16 докозадиеновая (22:2*n*-6)	6,64 ± 0,13	12,873	–	–	–	–	–	–
4,7,10,13,16-докозапентаеновая (22:5*n*-6)	0,62 ± 0,01	12,737	–	–	–	–	–	–
Докозагексаеновая (22:6*n*-3)	5,79 ± 0,12	12,783	3,49 ± 0,07	12,787	2,77 ± 0,06	12,773	3,42 ± 0,07	–
ПНЖК	29,04 ± 0,58		8,10 ± 0,16		5,81 ± 0,12		7,56 ± 0,15	
Холестерин	15,20 ± 0,30	19,302	20,23 ± 0,40	19,309	15,08 ± 0,30	19,298	12,55 ± 0,25	19,270
Контаминанты (терефталевая, дегидроабиетиновая и изопимаровая кислоты)	0,61 ± 0,01		1,80 ± 0,04		0,74 ± 0,01		3,01 ± 0,06	

объекта исследования для его дальнейшего перемещения в испаритель хроматографа. Детергенты попадают в береговую зону со сточными водами, вследствие их широкого применения в моющих средствах. Однако их содержание в тканях *C. glaucum* относительно мало, что не может привести к серьезному влиянию на все звенья пищевой цепи. Аналогичная ситуация происходит и с полициклическими ароматическими углеводородами, присутствующими на хроматограммах. Несмотря на то, что некоторые их представители фиксируются в хроматограмме, каких-либо особо опасных представителей данного вида обнаружено не было. Для определения большинства полициклических ароматических соединений используются методы жидкостной хроматографии, а не газовой, тем не менее, отдельные представители данных соединений были зафиксированы и данным прибором. Концентрация зафиксированных представителей полициклических ароматических соединений также мала как детергентов.

Отдельный интерес представляют данные по наличию в моллюске таких контаминантов загрязнителей, как терефталевая, дегидроабиетиновая и изопимаровая кислоты. Данные об их суммарном содержании приведены в таблице 1. Терефталевая кислота является активным участником процессов получения различных синтетических полимеров, которые на сегодняшний день активно используются для создания пластиковой посуды и контейнеров для еды. Данная кислота обладает низкой растворимостью в воде. Поэтому ее присутствие в воде в виде нерастворимой взвеси из частиц микропластика, является одной из серьезных проблем как в целом в Мировом Океане, так и в прибрежных зонах Крыма [18, 19]. Наличие терефталевой кислоты в гидробионте, указывает на степень экологической нагрузки, которую оказывают на данную область береговой линии г. Севастополя, пищевые отходы от упаковки продуктов питания, попадающие непосредственно в водную среду. Результаты данного исследования показали наличие этого загрязнителя в тканях ноги (около 57 %), жабр (около 21 %), гепатопанкреаса (порядка 22 %), а также отсутствие этого контаминанта в других тканях. Можно предположить, что в организм моллюска данное вещество попадает через жабры, затем накапливается в органе, отвечающим за метаболизм – гепатопанкреасе, а после чего максимально накапливается в мышечном органе (ноге), отвечающим за передвижение. Такое распределение предполагает периодическое, не постоянное, наличие в окружающей среде, так называемого, микропластика. Об этом говорит относительно низкое содержание его в жабрах, постоянно фильтрующих морскую среду, на фоне высокого содержания в мышечном органе, ноге, т. е. процесс накопления длителен и основным накапливающим органом выступает нога моллюска.

Дегидроабиетиновая и изопимаровая кислоты являются веществами, которые часто фиксируются, как загрязнители, в сточных водах. Они относятся к отходам, образующимся в процессе целлюлозно-бумажного производства. При сбросе сточных вод могут попадать в прибрежную зону и накапливаться в организме гидробионтов. Наличие данных кислот зафиксировано в остальных тканях изучаемого моллюска, что свидетельствует о другом способе их проникновения в организм, в отличие от терефталевой кислоты, либо их быстром выведении из наиболее чувствительных тканей (жабр, гепатопанкреаса и ноги). Это может быть связано с формой таких соединений, в которой они присутствуют в окружающей среде моллюска, а именно в жидкой фазе, что характерно для смоляных кислот.

Всего обнаружено более 23 видов жирных кислот, среди которых 9 насыщенных жирных кислот – 35–40 %, 8 мононенасыщенных – 15–34% и 6 полиненасыщенных – 5,8–29 %, относящихся к семействам омега-3, 5, 6, 7, 9, 11, 13. Основными насыщенными жирными кислотами являлись пальмитиновая (16:0) и стеариновая (18:0), их уровни колебались в пределах 25,6–32,1 % от суммы насыщенных жирных кислот в каждой ткани. Среди мононенасыщенных жирных кислот большая часть приходилась на олеиновую кислоту (18:1*n*-9), причем в двух изомерных формах (цис- и транс-). Ее содержание колебалось от 7,8 до 30,7 %, в каждой из исследованных тканей. Наличие олеиновой кислоты (18:1*n*-9) в составе фосфолипидов липидного бислоя двустворчатых моллюсков способствует нормальному функционированию мембран, связанных белков, ионных каналов и рецепторов в условиях зимних температур. Других жирных кислот, участвующих в этих процессах и обнаруженных в составе мидий Белого моря, таких как 18:3, 20:3, 22:4, у *C. glaucum* не выявлено [2, 5, 7]. Среди полиненасыщенных жирных кислот доминировали арахидоновая (20:4*n*-6) и докозагексаеновая кислоты (22:6*n*-3), присутствующие во всех исследованных тканях в суммарном количестве 5,8–12,1 %.

Состав жирных кислот имеет связь со спектром питания моллюсков [13]. У *C. glaucum*, обитающей в зоне заплеска воды, обнаружены жирные кислоты – маркеры диатомовых микроводорослей, детрита и зоопланктона, которые ранее были определены у мидий [14].

Большинство жирных кислот моллюски-фильтраторы получают через пищу. Присутствие у *C. glaucum,* псевдолиторальной зоны, эйкозапентаеновой (20:5*n*-3) и докозагексаеновой кислоты (22:6*n*-3) отражает наличие специфических адаптаций с характерными структурными и функциональными механизмами в биологических мембранах, в ответ на изменения условий окружающей среды (температуры, солоености и др.) [2].

Несмотря на видовую близость с *Cerastoderma edule* из средиземноморского региона, у черноморской *C. glaucum* состав жирных кислот существенно отличался [9, 10]. У *C. glaucum,* псевдолиторальной зоны, присутствовали: 22:0; 16:1*n*-5; 18:1*n*-13c; 18:4*n*-3; 22:5*n*-6 жирные кислоты, отсутствовали: 18:2*n*-6; 18:3*n*-6;

20:2*n*-9; 22:2*n*-9; 22:3*n*-6; 22:4*n*-3; 22:5*n*-3 полиненасыщенные жирные кислоты.

В распределении жирных кислот липидов отмечалась тканеспецифичность. Наибольшее содержание полиненасыщенных жирных кислот характерно для жабр моллюска (эйкозапентаеновая кислота – 9,6 ± 0,2 %), мононенасыщенных для гепатопанкреаса и суммы остальных тканей моллюска (олеиновая кислота – 17,6 ± 0,3 % и 30,7 ± 0,6 % соответственно). Состав насыщенных жирных кислот во всех тканях имел качественные отличия. У *C. glaucum*, псевдолиторальной зоны, в целом уровень полиненасыщенных жирных кислот в исследуемых тканях был существенно снижен, доминировали насыщенные жирные кислоты.

Во всех тканях отмечен относительно высокий уровень холестерина 12,55–20,23 %, который уступал по содержанию только классам фосфолипидов и диглицеридов в этих же тканях.

Выводы

Общий уровень липидов у моллюска 2,4–15,1 г/100 г сырого веса сопоставим с результатами исследователей этого вида из других регионов Мирового океана. Распределение общих липидов с учетом массово-размерных характеристик моллюска имело схожесть с другими подвижными видами двустворчатых моллюсков, у которых по содержанию общих липидов доминировали нога и гепатопанкреас. Сезонная динамика общих липидов и классов липидов в тканях жабр, ноги и гепатопанкреаса имела свои общие закономерности. Наиболее высокие значения общих липидов, равномерное распределение структурных и запасных липидов наблюдалось весной. Осенью было отмечено относительное снижение общих липидов, которое сопровождалось ростом уровня структурных липидов до 2/3 во всех тканях. В зимний период происходило постепенное увеличение общих липидов за счет структурных липидов, на фоне минимального содержания запасных (жиров). На ряду с общими чертами динамики накопления липидов, отмечена специфичность для гепатопанкреаса. Наблюдался значительный перевес в содержании мембранных липидов над запасными во всех 3-х типах тканей в течение всего периода исследований. Общие показатели липидов отражали физиологическую реакцию моллюсков *Cerastoderma glaucum* на частые изменения температуры, и других неблагоприятных факторов, характерных для псевдолитеральной зоны. С этим связано высокое накопление структурных фосфолипидов, в результате процессов направленных на восстановление структуры и функций клеточных мембран.

Состав жирных кислот и общих липидов в зимний сезон в сумме всех тканей представлен 23 видами, среди которых 9 – насыщенных 35–40 %, 8 – мононенасыщенных 15–34 % и 6 – полиненасыщенных жирных кислот 5,8–29 %, относящихся к семействам омега-3, 5, 6, 7, 9, 11, 13. Среди доминирующих жирных кислот во всех тканях отмечались пальмитиновая (в жабрах – 21,75 ± 0,44 %; ноге – 19,45 ± 0,39 %; гепатопанкреасе – 21,01 ± 0,42 %; остальных тканях – 24,75 ± 0,50 %) и олеиновая (в жабрах – 7,80 ± 0,16 %; ноге – 15,03 ± 0,30 %; гепатопанкреасе – 19,06 ± 0,38 %; остальных тканях – 30,69 ± 0,61 %). Соотношение насыщенных, мононенасыщенных и полиненасыщенных жирных кислот было в пользу насыщенных жирных кислот во всех тканях. Состав липидов: соотношение структурных и запасных, а также состав жирных кислот у *C. glaucum,* имел существенные отличия от видового аналога из других регионов Мирового Океана, что объясняется влиянием не только общих гидро-экологических, трофических особенностей Чёрного моря, но и влиянием псевдолиторальной зоны, как места обитания моллюсков.

Критерии авторства

А. В. Бородиной предложена тема, осуществлены сухопутные экспедиции по сбору моллюсков, проведено препарирование тканей, получены результаты определения общих липидов и разделения их на классы с помощью тонкослойной хроматографии, исследовано денситометрическое измерение фосфолипидов, моноглицеридов, триацилглицеридов, диглицеридов и стеринов соответственно. А. В. Бородина отвечала за общее оформление работы, написание рукописи, а также за переписку с редакцией.

К. А. Пименовым осуществлялась подготовка к сухопутным экспедициям, проведен сбор моллюсков и частичное определение общих липидов тканей, и разделение их на классы методом тонкослойной хроматографии в зимний и весенний периоды, подготовка диаграмм и поиск литературы по общим липидам и классам липидов у *Cerastoderma glaucum.*

Ю. О. Веляевым была выполнена интерпретация хроматограмм и полученных масс-спектров отдельных соединений зимней пробы общих липидов всех тканей. Ю. О. Веляев принимал активное участие в оформлении рукописи, касающейся описания процесса газохроматографического исследования и пробоподготовки образца, содержащего жирнокислотную фракцию, а также в представлении данных в графическом и текстовом видах.

А. Р. Осокиным был предложен способ дериватизации образцов для газовой хроматографии, содержащих жирнокислотную фракцию, после этого по предложенной схеме была проведена пробоподготовка изучаемых материалов. А. Р. Осокиным был настроен метод ввода пробы, и проведён газохроматографический анализ. Также он принимал активное участие в обсуждении и интерпретации результатов, полученных данных и подборе литературных источников.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

A.V. Borodina designed the research, i.e., sampling expeditions, tissue preparation, thin-layer chromatography, densitometric measurement, and analysis of the results obtained, as well as drafted the manuscript. K.A. Pimenov organized the expeditions, did the sampling, performed the thin-layer chromatography, designed the graphs, and reviewed scientific publications. Yu.O. Velyaev interpreted the chromatograms and mass spectra, described gas chromatography, prepared the samples, and represented the data in graphs and text. A.R. Osokin developed a method for derivatizing samples for gas chromatography, configured the sample injection method, carried out the gas chromatography, interpreted the results, and reviewed scientific literature.

Conflict of interest

The authors declared no conflict of interests regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Kopiy VG, Bondarenko VG. Atlas of the inhabitants of the pseudolittoral of the Azov-Black Sea coast of Crimea. Sevastopol: IBSS; 2020. 120 p. (In Russ.). https://doi.org/10.21072/978-5-6044865-1-1

2. Fokina NN, Nefedova ZA, Nemova NN. Lipid composition of mussels *Mytilus edulis* L. of the White Sea. The influence of some environmental factors. Petrozavodsk: Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences; 2010. 243 p. (In Russ.). [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.].

3. Murphy DJ. The biogenesis and functions of lipid bodies in animals, plants and microorganisms. Progress in Lipid Research. 200;40(5):325–438. https://doi.org/10.1016/S0163-7827(01)00013-3

4. Harayama T, Riezman H. Understanding the diversity of membrane lipid composition. Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2018;19:281–296. https://doi.org/10.1038/nrm.2017.138

5. Fokina NN, Nefedova ZA, Nemova NN. Biochemical adaptations of marine bivalves to anoxic conditions (Review). Proceedings of the Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. 2011;(3):121–130. (in Russ). [Фокина Н. Н., Нефедова З. А., Немова Н. Н. Биохимические адаптации морских двустворчатых моллюсков к аноксии (Обзор) // Труды карельского научного центра российской академии наук. 2011. № 3. С. 121–130.]. https://www.elibrary.ru/OGHSCR

6. Parnova RG. Lipids as signaling platforms and signaling molecules. Zhurnal Evolyutsionnoi Biokhimii I Fiziologii. 2020;56(7):824–825. https://doi.org/10.31857/S0044452920072176; https://elibrary.ru/IVTPKI

7. Fokina NN, Ruokolainen TR, Nemova NN, Martynova DM, Sukhotin AA. Fatty acids distribution in seston, tissues, and faecal pellets of blue mussels *Mytilus edulis* L. Doklady Biochemistry and Biophysics. 2020;495:311–318. https://doi.org/10.1134/S1607672920060046

8. Vural P. Monthly variation of biochemical composition of Lagoon Cockle (*Cerastoderma glaucum*, Bruguiиre, 1789), from Çardak Lagoon (Turkey). Thalassas: An International Journal of Marine Sciences. 2022;38:885–893. https://doi.org/10.1007/s41208-022-00423-7

9. Ricardo F, Pimentel T, Moreira ASP, Rey F, Coimbra MA, Domingues MR, *et al.* Potential use of fatty acid profiles of the adductor muscle of cockles (*Cerastoderma edule*) for traceability of collection site. Scientific Reports. 2015;(5):11125. https://doi.org/10.1038/srep11125

10. Ricardo F, Pimentel T, Maciel E, Moreira ASP, Domingues MR, Calado R. Fatty acid dynamics of the adductor muscle of live cockles (*Cerastoderma edule*) during their shelf-life and its relevance for traceability of geographic origin. Food Control. 2017;77:192–198. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.01.012

11. Mahony KE, Egerton S, Lynch SA, Blanchet H, Goedknegt MA, Groves E. Drivers of growth in a keystone fished species along the European Atlantic coast: The common cockle *Cerastoderma edule*. Journal of Sea Research. 2022;179:1–9. https://doi.org/10.1016/j.seares.2021.102148

12. Revkov NK. Macrozoobenthos of the Ukrainian shelf of the Black Sea. In: Eremeev VN, Gaevskaya AV, Shulman GE, Zagorodnyaya JuA, editors. Biological resources of the Black Sea and Sea of Azov. Sevastopol: ECOSI-Hydrophysics; 2011. pp. 140–162. (In Russ.). [Ревков Н. К. Макрозообентос украинского шельфа Черного моря // под ред. В. Н. Еремеев, А. В. Гаевская, Г. Е. Шульман, Ю. А. Загородняя. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2011. С. 140–162.].

13. Borodina AV, Zadorozhny PA. The annual dynamics of tissue carotenoids in a bivalve mollusk *Cerastoderma glaucum* (Bruguière, 1789). Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. 2020;56(1):3–12. https://doi.org/10.1134/S0022093020010019

14. Fokina NN, Shklyarevich GA, Ruokolainen TR, Nemova NN. Ecological and biochemical monitoring of some intertidal mussel *Mytilus edulis* L. settlements in Kandalaksha Nature Reserve. Vestnik of MSTU. 2019;22(2):213–224. (In Russ.) https://doi.org/10.21443/1560-9278-2019-22-2-213-224

15. Borodina AV, Veliaev YuO, Osokin AR. Comprehensive Methodological Approach to Determining Lipids in Clams. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(4):662–671. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2464; https://elibrary.ru/JWGHGY

16. Shcherban SA, Makarov MV, Melnik AV. The understudied bivalve species of the black sea *Cerastoderma glaucum* (bruguiere, 1789) (Cardiidae): distribution and some aspects of biology and physiology. A review. Ekosistemy. 2022; (32):73–84. (In Russ.). [Щербань С. А., Макаров М. В., Мельник, А. В. *Cerastoderma glaucum* (Bruguiere, 1789) (Cardiidae) – малоизученный вид двустворчатых моллюсков Черного моря: распространение и некоторые аспекты биологии и физиологии. Обзор // Экосистемы. 2022. № 32. С. 73–84.]. https://www.elibrary.ru/OYBHCX

17. Nemova NN, Meshcheryakova OV, Lysenko LA, Fokina NN. The assessment of the fitness of aquatic organisms relying on the biochemical status. Proceedings of the Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. 2014; (5):18–29. (In Russ.). [Немова Н. Н., Мещерякова О. В., Лысенко Л. А., Фокина Н. Н. Оценка состояния водных организмов по биохимическому статусу // Труды карельского научного центра российской академии наук. 2014. № 5. С. 18–29.]. https://www.elibrary.ru/THJTPP

18. Bagaev A, Esiukova E, Litvinyuk D, Chubarenko I, Subramanian V, Ramadoss V, *et al.* Investigations of plastic contamination of seawater, marine and coastal sediments in the Russian seas: a review. Environmental Science and Pollution Research. 2021;28;32264–32281. https://doi.org/10.1007/s11356-021-14183-z

19. Strokal V, Kuiper EJ, Bak MP, Vriend P, Wang M, van Wijnen J, *et al.* Future microplastics in the Black Sea: River exports and reduction options for zero pollution. Marine Pollution Bulletin. 2022;178:113633. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113633