

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского
Дальневосточного отделения Российской академии наук
(ННЦМБ ДВО РАН)

На правах рукописи

Сикорская Татьяна Васильевна

**ЛИПИДОМ СИМБИОТ - СОДЕРЖАЩИХ КОРАЛЛОВ И ЕГО ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОБЕСЦВЕЧИВАНИИ**

03.01.04 – Биохимия

**Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Научный руководитель:

д.б.н., г.н.с. Имбс Андрей Борисович

ВЛАДИВОСТОК – 2020

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	10
1.1 Коралл – симбиотический организм.....	10
1.2 Обесцвечивание кораллов	12
1.2.1 Термин «обесцвечивание кораллов» и его экологическое значение.....	12
1.2.2 Механизмы запуска обесцвечивания кораллов	12
1.2.3 Клеточные механизмы потери симбионтов коралла при стрессе.....	14
1.3 Липиды кораллов.....	17
1.3.1 Рифообразующие кораллы	18
1.3.2 Мягкие кораллы.....	22
1.3.3 Зоантарии	30
1.3.4 Зооксантеллы	31
1.4 Изменения состава липидов кораллов под влиянием неблагоприятных условий окружающей среды	38
2. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	45
2.1 Липидомы кораллов.....	45
2.1.1 Мягкий коралл <i>Sinularia siaesensis</i> (Anthozoa: Octocorallia: Alcyonacea: Alcyoniidae).....	45
2.1.2 Зоантария <i>Palythoa tuberculosa</i> (Anthozoa: Hexacorallia: Zoantharia: Sphenopidae).....	53
2.1.3 Рифообразующий коралл <i>Acropora cerealis</i> (Anthozoa: Hexacorallia: Scleractinia: Acroporidae).....	57
2.1.4 Сравнение липидомов зооксантелл, выделенных из <i>P. tuberculosa</i> и <i>S. heterospiculata</i>	59
2.1.5 Сравнение липидомов коралловых полипов	66
2.2 Экспериментальное обесцвечивание альционарии <i>Sinularia heterospiculata</i> под действием теплового стресса	74
2.2.1 Анализ динамики липида при обесцвечивании	74
2.2.2 Эксперимент по обесцвечиванию <i>S. heterospiculata</i> с дополнительным анализом методами электронной микроскопии и проточной флюороцитометрии.....	89
3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	103
4. ВЫВОДЫ	111
ПЕРЕЧЕНЬ ИСПОЛЪЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	113
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	115
ПРИЛОЖЕНИЕ 1	127
ПРИЛОЖЕНИЕ 2	137
ПРИЛОЖЕНИЕ 3	140
ПРИЛОЖЕНИЕ 4	150

ВВЕДЕНИЕ

Коралловые рифы образуют одну из самых важных экосистем Мирового океана. Наиболее известны тропические мелководные коралловые рифы, однако в холодных водах на глубинах до 200 м бореальные твердые кораллы образуют большие скопления [1]. Рифы служат домом для многих видов донных и пелагических морских организмов [2]. Структурную основу рифа составляют твердые, или рифообразующие, кораллы (шестилучевые коралловые полипы, Anthozoa: Hexacorallia: Scleractinia), которые имеют твердый известковый экзоскелет, а так же мягкие кораллы (восьмилучевые коралловые полипы, Anthozoa: Octocorallia), которые можно разделить на горгонарии (Gorgonacea), имеющие внутри колоний кератиноподобный осевой скелет, и альционарии (Alcyonacea), содержащие внутри колонии мелкие известковые спиккулы. На коралловом рифе часто встречаются другие представители шестилучевых коралловых полипов – зоантарии (Anthozoa: Hexacorallia: Zoantharia), колонии которых, в отличие от твердых кораллов, не имеют экзоскелета, но, подобно альционариям, содержат известковые спиккулы. Большинство видов коралловых полипов являются симбионт-содержащими животными, гастродермальные клетки которых содержат динофлагелляты семейства Symbiodiniaceae или зооксантеллы, образуя симбисомы.

Ткани коралловых полипов богаты липидами, которые составляют до 30% сухой массы тканей [3]. В нашей работе мы будем использовать определение, согласно которому липиды – это жирные кислоты (ЖК) и их производные, а также вещества, биосинтетически связанные с этими соединениями [4]. Общие липиды, которые выделяют из колоний кораллов экстракцией органическими растворителями, содержат нейтральные липиды (НЛ), в том числе стерины (СТ), гликолипиды (ГЛ), фосфолипиды (ФЛ) и углеводороды. Более половины общих липидов кораллов составляют НЛ [5], к которым относятся триацилглицериды (ТГ), моноалкилдиацилглицериды (МАДАГ), воски (ЭВ, сложные эфиры алифатических спиртов и ЖК), а также эфиры стерин [3, 6]. В липидах зооксантелл содержится ряд ГЛ: сульфохиновозилдиацилглицериды (СХДГ), моно- и дигалактозилдиацилглицериды (МГДГ и ДГДГ), которые характерны для мембран фотосинтетического аппарата растений [7], а также липиды плазматических мембран зооксантелл – бетаиновые липиды (БЛ). Полярные липиды составляют 13–50% от общих липидов тропических кораллов [3, 8]. В состав полярных липидов кораллов входят этаноламин-, холин-, серин- и инозитглицерофосфолипиды (ФЭ, ФХ, ФС и ФИ, соответственно), лизофосфатидилхолин (ЛФХ), лизофосфатидилэтанолламин (ЛФЭ), а также фосфолипид – церамидаминоэтилфосфонат (ЦАЭФ) [9, 10]. В коралловых полипах НЛ служат основным резервом энергии, а ФЛ и СТ выполняют структурную функцию и составляют основу клеточных мембран [11]. В организме кораллов липиды вовлечены в ряд

важных физиологических процессов, поэтому анализ липидов часто применяют в работах по определению репродуктивной стратегии, симбиотических и трофических связей, спектра питания, степени здоровья и восстановления индивидуальных колоний кораллов, общих энергетических затрат книдарий и влияния условий окружающей среды на их липидный состав [12-17]. Все эти исследования выполнены с использованием анализа содержания и состава общих липидов, общих ЖК и отдельных классов липидов.

Актуальность исследования и степень ее разработанности

Как указано выше, общие липиды коралловых полипов содержат более десяти основных классов липидов, однако каждый класс липидов представляют собой сложную смесь индивидуальных молекул. Кораллы, как и другие биологические объекты, содержат сотни молекулярных видов липидов. По аналогии с геномом, протеомом и метаболомом, общий спектр липидных молекул биологической системы определяется как липидом, а картирование спектра липидов и определение их биологической роли называется липидомикой [18].

В настоящее время, благодаря появлению новых инструментальных методов, липидомный анализ широко применяется для диагностики многих заболеваний, связанных с нарушением липидного обмена [19, 20]. При этом количество научных работ по липидому человека и высших наземных животных на два порядка превышает количество исследований липидома морских организмов. Данные об общем липидоме кораллов, а также других видов морских беспозвоночных, отсутствуют. Мы предположили, что переход от классических интегральных показателей к анализу липидома откроет новые возможности в изучении биохимии и экологии кораллов на молекулярном уровне. Фундаментом для такого рода исследований является расшифровка липидома коралловых полипов.

Существование симбионт-содержащих видов коралловых полипов полностью зависит от наличия зооксантелл, которые в процессе фотосинтеза вырабатывают питательные вещества, обеспечивая до 90% энергии, необходимой организму-хозяину [21]. При температуре воды выше 32°C коралл теряет зооксантеллы. Этот процесс известен как обесцвечивание кораллов (bleaching). Полное обесцвечивание под действием теплового стресса приводит к гибели не только отдельных животных, но и целых экосистем коралловых рифов. За последние полвека площадь коралловых рифов сократилась на 30%. Предполагается, что к 2050 году исчезнет 70% всех тропических рифов [22]. В связи с этим, опубликовано множество исследований, касающихся физиологии симбиотического организма коралла: механизмы образования симбиоза между полипом и зооксантеллами, регулирование биомассы симбионта организмом-хозяином, метаболизм симбиосом, а также влияние температурного стресса на морфологию и физиологию симбионтов и полипа [23-25]. Однако липидомный подход к изучению взаимодействия организма-хозяина и симбионтов в коралле не использовался.

Известно, что устойчивость зооксантелл к температурному стрессу связана с составом их ЖК, а обесцвечивание сопровождается существенными перестройками в составе общих липидов и ЖК всего симбиотического организма [12, 26]. Установление и сравнение липидома симбиотического организма коралла в норме и в условиях стресса позволит изучить динамику изменения липидома коралла в процессе обесцвечивания на молекулярном уровне. Знание о характере изменений липидома коралла в процессе обесцвечивания откроют пути для определения ключевых молекулярных видов липидов, которые являются мишенью действия температурного стресса на симбиотический организм.

Цель и задачи исследования

Цель исследования:

Дать полную характеристику липидомов симбиот-содержащих коралловых полипов из трёх отрядов (Scleractinia, Zoantharia и Alcyonacea), определить причины их сходства и различия, установить закономерности изменения липидома и их связь с морфологией и физиологией коралла при температурном стрессе.

Для достижения этой цели необходимо решить следующие задачи:

1. Установить липидомы (химическую структуру и количество всех молекулярных видов НЛ, ГЛ и ФЛ) симбиот-содержащих коралловых полипов *Sinularia seaesensis*, *S. heterospiculata* (Octocorallia: Alcyonacea), *Palythoa tuberculosa* (Hexacorallia: Zoantharia) и *Acropora cerealis* (Hexacorallia: Scleractinia), собранных в прибрежных водах Вьетнама (Южно-Китайское море).
2. Провести сравнение липидомов коралловых полипов. Определить зависимость липидома книдарий от их таксономического положения. Сравнить состав молекулярных видов восков, главного резервного класса липидов, различных групп кораллов (симбиотических мягких и рифообразующих и асимбиотических мягких кораллов).
3. Из мягкого коралла *S. heterospiculata* и зоантарии *P. tuberculosa* выделить чистые фракции зооксантелл, расшифровать и сравнить липидомы этих фракций, определить зависимость между липидомом и температурной устойчивостью зооксантелл.
4. На примере *S. heterospiculata* исследовать динамику липидома, морфологические и физиологические изменения в клетках симбионтов и организма-хозяина в процессе обесцвечивания колоний под действием повышенной температуры в экспериментальных условиях, установить связь между изменениями липидома и физиологическими процессами, происходящими в симбиотическом организме коралла.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования

Впервые для морских беспозвоночных животных, расшифрован полный липидом мягкого коралла *S. seaesensis* и *S. heterospiculata*, зоантарии *P. tuberculosa* и рифообразующего коралла *A. cerealis*, установлены химические структуры и содержание 381 молекулярного вида НЛ, ФЛ, ГЛ и БЛ. Впервые определены характерные особенности полных липидомов у трёх основных отрядов Anthozoa, установлены основные пути распределения ЖК при биосинтезе различных классов липидов. Впервые обнаружена способность книдарий без зооксантелл использовать ЖК бактериального происхождения для биосинтеза молекул восков. Впервые расшифрован полный липидом симбиотических микроводорослей (зооксантелл), выделенных из *S. heterospiculata* и *P. tuberculosa*, найдены особенности состава молекулярных видов гликолипидов различных видов (кладов) зооксантелл с разной температурной устойчивостью. Определён состав молекулярных видов ТГ зооксантелл из альционарии и зоантарии. Показана возможность изучения каждого члена симбиотической ассоциации в целой колонии коралла с использованием маркерных молекулярных видов липидов. В экспериментальных условиях, на примере симбиотического мягкого коралла *S. heterospiculata*, впервые определена динамика липида при обесцвечивании (потере зооксантелл) кораллов под действием повышенной температуры. Найдено изменение липидомных показателей на начальной стадии обесцвечивания при отсутствии достоверных изменений классических интегральных показателей, таких как уровень общих липидов и ЖК. Показано, что главной реакцией липида *S. heterospiculata* на начальной стадии обесцвечивания является нарушение суточного ритма ГЛ, уменьшение уровней ТГ, МАДАГ и ГЛ, при постоянном уровне ЭВ и ФЛ. Этаноламинглицерофосфолипид (ФЭ) определен, как главная мишень теплового стресса среди структурных фосфолипидов *S. heterospiculata*. При действии повышенной температуры на вторые сутки быстро образуется большое количество окисленных и лизо-производных ФЭ. Впервые дана одновременная характеристика изменений липида, физиологии и морфологии клеток симбионтов и организма-хозяина мягкого коралла в условиях теплового стресса.

На примере анализа морских книдарий предложены новые подходы к анализу сложного комплекса молекулярных видов из смеси разных классов липидов с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии, сверхкритической флюидной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии высокого разрешения; опубликованы схемы фрагментации и характеристические ионы широкого спектра молекулярных видов липидов. Результаты по динамике липида при обесцвечивании кораллов могут быть использованы широким кругом специалистов по биохимии, экологии и биологии морских беспозвоночных животных для изучения симбиотических и трофических взаимодействий в морских донных сообществах, проведения экологического мониторинга и восстановления экосистемы коралловых рифов.

Развитие липидомики морских организмов будет способствовать разработке рекомендаций по регулированию продуктивности морских экосистем.

Методология и методы исследования

В данной работе использовали общепринятые методы химии липидов. Анализ молекулярных видов восков, ТГ, МАДАГ, ФЛ, ГЛ и БЛ проводили с помощью газовой, сверхкритической флюидной и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ГХ, СФХ и ВЭЖХ) с различными детекторами. Идентификацию профиля восков осуществляли масс-спектрометрией низкого разрешения с ионизацией электронным ударом, ТГ и МАДАГ – масс-спектрометрией низкого разрешения с химической ионизацией при атмосферном давлении, ФЛ, ГЛ и БЛ – тандемной масс-спектрометрией высокого разрешения с ионизацией электрораспылением. Морфологический и физиологический анализ клеток симбионтов и организма-хозяина коралла проводили с помощью электронной микроскопии и проточной цитометрии.

Основные положения, выносимые на защиту

Липидом альционии *S. seaesensis*, альционии *S. heterospiculata*, зоантарии *P. tuberculosa* и рифообразующего коралла *A. cerealis* содержит не менее 131, 156, 155 и 162 молекулярных видов липидов, соответственно. Липидом зооксантелл *Durisdinium trenchii* и *Cladocopium* sp., выделенных из *S. heterospiculata* и *P. tuberculosa*, соответственно, насчитывает не менее 58 молекулярных видов.

Липидом исследованных видов кораллов и их симбионтов зависит от таксономического положения организма-хозяина. Зооксантеллы и ткани организма-хозяина содержат уникальные молекулярные виды липидов, которые могут применяться, как биохимические маркеры. Книдарии без симбионтов могут использовать для синтеза восков, главного резерва энергии, жирные кислоты ассоциированных бактерий.

Резкие различия в липидах симбионтов и организма-хозяина можно использовать для исследования состава и динамики липидов каждого члена симбиотического сообщества без предварительного разделения.

Анализ молекулярных видов липидов, в отличие от анализа общих липидов и ЖК, позволяет отслеживать биохимические изменения в симбиотическом мягком коралле на ранней стадии обесцвечивания.

Кратковременный экспериментальный температурный стресс не вызывает критических изменений структурных липидов в *S. heterospiculata*, что указывает на низкую степень риска потери мягких кораллов в экосистеме кораллового рифа в природных условиях после однодневного повышения температуры воды выше 32°C.

После 48 часов температурного стресса в тканях мягкого коралла происходят резкие физиологические изменения, которые сопровождаются существенными нарушениями липидома и приводят к гибели симбиотического организма.

Степень достоверности и апробация полученных результатов

Достоверность исследования обеспечивается использованием современных методов анализа и статистической обработкой экспериментальных данных.

Результаты работы были представлены в виде докладов на международной научной конференции «Scientific and technological developments of research and monitoring of marine biological resources» (Владивосток, 2017), конференции к 100-летию со дня рождения Льва Давидовича Бергельсона – основателя науки о липидах в России «Липиды XXI века. Первая четверть» (Москва, 2018), 3-ей международной конференции «SmartBio» (Каунас, Литва, 2019), международной конференции «Marine Biodiversity for a Healthy Ocean – Biodiversity, Functional Groups and Ocean Health» (Владивосток, 2019) и Годичной научной конференции Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (Владивосток, 2019).

Публикации

Основные результаты исследований, проведенных по теме диссертации, опубликованы в российских и международных рецензируемых научных журналах «Биология моря», «Биоорганическая химия», «Химия природных соединений» и «Journal of Experimental Marine Biology and Ecology». Всего по теме диссертации опубликовано 5 статей в журналах и 6 тезисов докладов на конференциях.

Диссертация обсуждена и одобрена на семинаре лаборатории сравнительной биохимии ННЦМБ ДВО РАН «29» мая 2020 г., а также обсуждена и одобрена на межлабораторном семинаре ННЦМБ ДВО РАН «10» июня 2020 г.

Личный вклад соискателя в проведение исследования

Соискателем был выполнен анализ литературных данных по теме исследования, планирование экспериментов и обсуждение результатов, написаны статьи и подготовлены доклады на конференции. Основная часть результатов, представленных в диссертации, получена лично автором. На защиту вынесены только те положения и результаты, в получении которых роль соискателя была определяющей.

Структура диссертации

Диссертация состоит из введения, литературного обзора, посвященного липидам симбиотических видов кораллов и процессу обесцвечивания кораллов, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка цитируемой литературы и приложения. Работа

изложена на 154 страницах машинописного текста, содержит 14 таблиц, 34 рисунка, 4 приложения и 208 литературных ссылок.

Благодарности

Автор выражает искреннюю признательность и благодарность своему научному руководителю д.б.н. Имбсу Андрею Борисовичу за всестороннюю поддержку и помощь при выполнении диссертационной работы. Автор благодарен сотрудникам Лаборатории сравнительной биохимии ННЦМБ ДВО РАН Шеиной Валентине Петровне, д.б.н. Светашеву Василию Ивановичу, к.б.н. Харламенко Владимиру Ивановичу и к.б.н. Веланскому Петру Владимировичу за помощь в освоении классических и хромато-масс-спектрометрических методов анализа липидов, Григорчук Валерии Петровне за помощь в идентификации молекулярных видов полярных классов липидов зооксантелл, к.б.н. Ермоленко Екатерине Владимировне за помощь в установлении профилей молекулярных видов полярных классов липидов исследованных групп кораллов и в проведении экспериментов по обесцвечиванию кораллов. Автор очень признателен сотрудникам ННЦМБ ДВО РАН к.б.н. Бороде Андрею Викторовичу и к.б.н. Гинановой Талие Талгатовне за помощь в проведении цитометрических и микроскопических анализов клеток коралла и его симбионтов, а также д.б.н. Латыпову Юрию Яковлевичу и к.б.н. Ефимовой Ксении Владимировне за определение видовой принадлежности исследованных кораллов и зооксантелл. Также автор признателен и благодарен начальнику 50-й экспедиции в Южно-Китайское море к.х.н. Юрченко Антону Николаевичу и всему командному составу НИС «Академик Опарин».

1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Коралл – симбиотический организм

Филогенетическое положение книдарий (тип Cnidaria) в животном мире было определено только в 18-м веке, врачом из Марселя, Жан-Андре Пейсонелом (Jean-Andre´ Peyssonnel), который обнаружил, что красный коралл имеет животную природу. Однако, название зоофиты (или фитозои), то есть небольшой комплексный организм, обладающий как животными, так и растительными характеристиками (Linnaeus 1758), оставалось привязанным к ним до начала XX века. Многие физиологические черты книдарий согласуются с этим термином. Почти половина книдарий содержит фотосинтетические микроводоросли, которые называют зооксантеллами (zooxanthellae), придающие им свойства растений, что привело к рождению концепции голобионта или метаорганизма. Такая ассоциация растений и животного сформировала целую экосистему кораллового рифа, который считается «оазисом в пустынном океане». Действительно, коралловые рифы занимают менее чем 0.2% площади Мирового океана и при этом включают 30% известных морских видов. Такое высокое биоразнообразие обеспечивает продовольствием почти 500 миллионов человек, позволяет ежегодно получать доходы от индустрии туризма и защиты прибрежных районов на сумму, оцениваемую примерно в 375 миллиардов долларов США. Из-за экологической важности коралловых рифов и угрозы их исчезновения за прошедшие два десятилетия кораллы изучали весьма интенсивно [22].

Симбиоз – совместная жизнь двух или более организмов в тесных, длительных отношениях; варьируется от мутуализма, когда оба партнера получают выгоду от ассоциации, до паразитизма, когда только один партнер извлекает пользу. Симбиозы между беспозвоночными и фотосинтезирующими партнерами широко распространены в морской среде, наиболее известным из которых является мутуализм между организмами, относящимися к типу Cnidaria (например, рифообразующие и мягкие кораллы, морские анемоны, медузы и гидрокораллы), и динофлагеллятами семейства Symbiodinacia (зооксантеллами).

Симбиотические динофлагелляты обычно расположены внутри клеток гастродермы кишечнополостного организма-хозяина (самого внутреннего тканевого слоя, который граничит с гастроваскулярной полостью), где они связаны мембранным комплексом, состоящим из мембраны водорослевого происхождения и наружной мембраны животного организма-хозяина [27, 28] (рис. 1). Зооксантеллы могут передаваться по наследству [29] или, чаще всего, попадают из окружающей среды [30], из которой они должны проникнуть в своего хозяина и сформировать симбиотическое партнерство. Образование эндосимбиоза проходит в несколько

этапов: сначала происходит контакт организм-хозяин-симбионт, затем происходит заражение или колонизация симбионтом и, наконец, внутриклеточная сортировка зооксантелл организмом-хозяином. В основе этих этапов лежат физиологические процессы, которые являются центральными для успешного образования симбиоза [23].

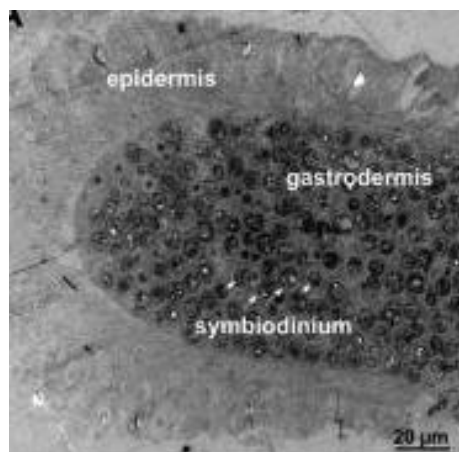


Рисунок 1 – Полученный с помощью трансмиссионной электронной микроскопии морфологический профиль щупальца морского анемона *Exaiptasia pulchella*. Обозначения: epidermis – эпидермис, gastrodermis – гастродерма и symbiodinium – зооксантеллы [31]

В дополнение к высокой освещенности и убежищу, зооксантеллы получают от организма-хозяина неорганический азот, фосфор и углерод в обмен на органический углерод, фиксируемый при фотосинтезе [32]. В случае склерактиниевых кораллов симбиоз также тесно связан со способностью кораллов образовывать массивные известковые скелеты, которые образуют коралловые рифы. Партнерство книдарии-динофлагелляты имеет особое экологическое значение в среде тропических коралловых рифов, в которой недостаточно экзогенного питания для коралла, и питательные вещества, получаемые симбионтами с помощью фотосинтеза, поддерживают метаболизм, рост, размножение и выживание кораллов. [33, 34].

Зооксантеллы, безусловно, являются самыми исследованными симбионтами кораллов, однако голобионт состоит из множества дополнительных симбионтов, включая протист (Apicomplexa), эндолитических водорослей, эубактерий, архей, вирусов, роль которых до сих пор малоизучена. Они могут принимать участие в фиксации углерода и азота, в цикле серы и в синтезе антибиотиков. Доминирующими представителями микробиоты как тропических, так и кораллов умеренных широт являются *Endozoicomonas* spp. (Gammaproteobacteria). Недавно, в средиземноморском красном коралле было показано присутствие спирохет (родов *Borrelia*, *Spirochaeta* и *Leptospira*), которые, как известно, паразитируют у наземных позвоночных [22].

1.2 Обесцвечивание кораллов

1.2.1 Термин «обесцвечивание кораллов» и его экологическое значение

Клетки симбионтов коралла имеют золотисто-коричневый цвет из-за присутствия различных пигментов в их хлоропластах. Здоровые кораллы содержат миллионы клеток зооксантелл на квадратный сантиметр ткани и поэтому часто имеют такой же золотисто-коричневый оттенок. Обесцвечивание кораллов называется так из-за потери цвета тканей организма-хозяина коралла и обнажения лежащем в основе белого известкового скелета (рис. 2). Эта потеря цвета чаще всего обусловлена дисфункцией симбиоза, то есть потерей симбионтов тканями полипа [35]. Обесцвечивание – это реакция на стресс, вызванный изменениями окружающей среды, такими как изменение солености, повышение степени ультрафиолетового облучения, повышение седиментации питательных веществ и загрязнения, например, тяжелыми металлами [36]. Однако в настоящее время общепризнанно, что масштабные события обесцвечивания коралловых рифов в природе являются результатом повышения температуры поверхности моря, связанного с глобальным потеплением, в сочетании с высокой степенью солнечной радиации [37]. Симбиотический организм коралла очень чувствителен к температуре, даже умеренное повышение температуры на 1–2°C может привести к обесцвечиванию всего рифа, особенно в сочетании с высоким уровнем солнечной радиации [37]. Широкие масштабы обесцвечивания могут иметь катастрофические последствия, такие как деградация рифов и даже полное разрушение экосистемы коралловых рифов [38].

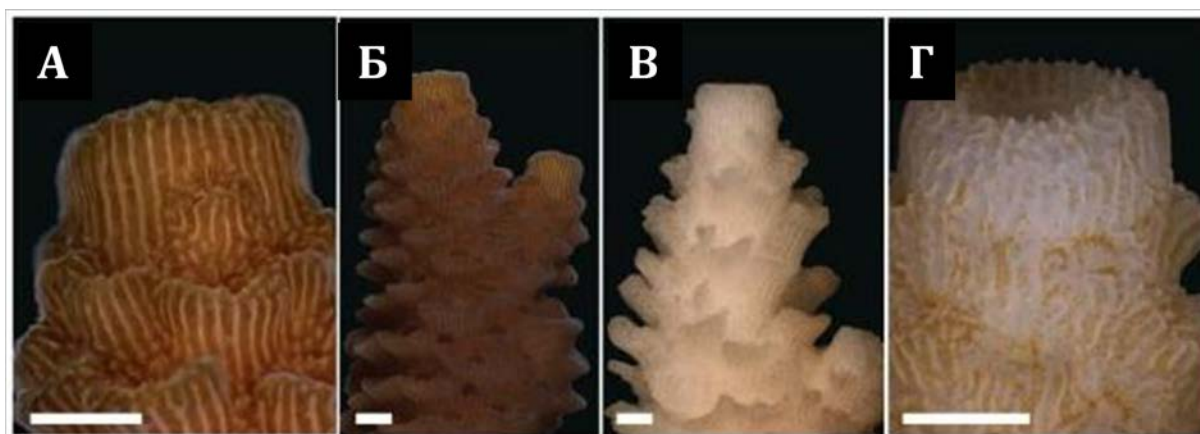


Рисунок 2 – Влияние температурного стресса на плотность клеток *Symbiodinium* в рифообразующем коралле *Acropora millepora*. Контрольные колонии *A. millepora* (27°C) (А, Б) и колонии через 17 дней после теплового воздействия (32°C) (В, Г). Масштаб = 1 мм [39]

1.2.2 Механизмы запуска обесцвечивания кораллов

Хорошо известно, что центральную роль в запуске процесса обесцвечивания играют активные формы кислорода (АФК, ROS). У симбионтов, подверженных тепловому или

световому стрессу, обнаружили высокую концентрацию АФК [40, 41]. Начинается процесс обесцвечивания в хлоропластах зооксантелл. Повышенная температура и высокий уровень солнечной радиации вызывают фотоингибирование, повреждение хлоропластов и фотосинтетических аппаратов клеток, что ведет к трем взаимосвязанным процессам запуска каскада обесцвечивания [32, 42]. (1) Повреждается белок D1, который является частью комплекса расщепления воды фотосистемы II. [43]. Это приводит к избытку энергии возбуждения и ведет к повреждению фотосистемы II [43]. (2) Под действием неблагоприятных условий происходят нарушения в темновой стадии фотосинтеза, что приводит к снижению фиксации углерода. [44]. Это связано с дисфункцией фермента рибулозобисфосфаткарбоксилазы (Rubisco), отвечающего за карбоксилирование рибулозо-1,5-бисфосфата на первой стадии цикла Кальвина, а также реакцию окисления рибулозобисфосфата на первой стадии процесса фотодыхания. [41]. Таким образом, происходит накопление, синтезированных во время световой стадии фотосинтеза, АТФ (АТР) и НАДФ-Н (NADPH), что приводит к дисфункции фотосистемы II [32, 44]. (3) Под действием теплового и светового стресса также повреждается сама тилакоидная мембрана [26]. В результате, нарушается транспорт электронов между двумя фотосистемами, фотосинтетический аппарат продолжает генерировать электроны, но перестает синтезировать АТФ и НАДФ-Н. Накопленные электроны всех трех процессов начинают генерировать АФК в симбионтах [26, 42, 44]. АФК очень быстро накапливаются, и когда антиоксидантная система зооксантелл перестает справляться, АФК диффундируют в ткани организма-хозяина коралла, что приводит к запуску процесса обесцвечивания [42].

В каскадном механизме обесцвечивания организма-хозяина ключевую роль играет окислительный стресс, который в животном организме модулирует гибель/выживание клеток [45] и связан с врожденным иммунитетом организма [46]. АФК синтезируются не только в клетках зооксантелл, но и в клетках самого организма-хозяина коралла при повреждении митохондрий под действием повышенной температуры и солнечной радиации [47, 48]. Далее АФК приводят к повреждениям ДНК [49], белков и мембран организма-хозяина [50]. При окислительном стрессе происходит накопление монооксида азота (NO), который участвует в межпартнерском взаимодействии и задействован в иммунном ответе [46]. В симбиотической актинии *Aiptasia pallida* уровень NO тканей организма-хозяина существенно возрастал в ответ на повышение температуры [51]. NO является сигнальной молекулой партнерских взаимодействий симбиотического организма коралла, а его накопление, вызванное повышением температуры приводит к обесцвечиванию [51]. Источник NO точно не известен [51]. Основываясь на исследованиях других систем, была предложена гипотеза, что NO реагирует с O_2 образуя $ONOO^-$, что вызывает повреждение митохондрий клеток и приводит к

высвобождению инициирующих апоптоз про-апоптотических молекул [52], например про-апоптотический белок p53 [53]. Взаимодействие хозяин-микроорганизм обусловлено способностью вторгающихся микроорганизмов уклоняться от иммунного ответа хозяина и контролировать его, а также способностью хозяина обнаружить и уничтожить патогенные микроорганизмы [54]. Мутуализм книдарии-динофлагелляты можно рассматривать как контролируемую инфекцию, благодаря которой симбионты успешно модулируют иммунный ответ хозяина. Таким образом, можно сказать, что обесцвечивание – это процесс обнаружения патогенных зооксантелл и уничтожение их организмом-хозяином коралла. Симбионты сигнализируют о своем присутствии выработкой АФК при фотоингибировании, а организм-хозяин, в свою очередь, вырабатывая NO, запускает иммунный ответ для избавления от патогенных микроорганизмов. [54].

1.2.3 Клеточные механизмы потери симбионтов коралла при стрессе

Существует множество исследований клеточных механизмов потери симбионтов кораллов. Разнообразие механизмов, которые были обнаружены и предложены [49, 55], изображено на рисунке 3, однако до сих пор исследователи не пришли к согласию относительно того, как эти механизмы отражают общую картину обесцвечивания. Неизвестно, какой механизм преобладает в природе, как зависит механизм от источника стресса и таксона организма-хозяина и как различные механизмы взаимодействуют друг с другом. Большинство исследований обесцвечивания опираются на снимки клеток, но до конца не выяснены динамические процессы, которые их вызывают и каким образом они взаимосвязаны.

Микроскопические исследования обесцвеченных кораллов в природе [56, 57]. а также кораллов и анемонов, подверженных тепловому стрессу [31, 39, 40, 58-60], показывают симбионтов, которые разрушаются в клетках организма-хозяина (*in situ*) (рис. 3). Сами зооксантеллы от воздействия АФК гибнут в результате запрограммированной гибели клеток (апоптоза) или неконтролируемой гибели клеток (некроза) [58, 59]. Также возможен механизм, когда организм-хозяин уничтожает зооксантеллы под действием врожденного иммунного ответа. Стресс приводит к изменениям в созревании лизосом и слиянию их с симбиосомами, предположительно, приводящему к перевариванию симбионтов [61].

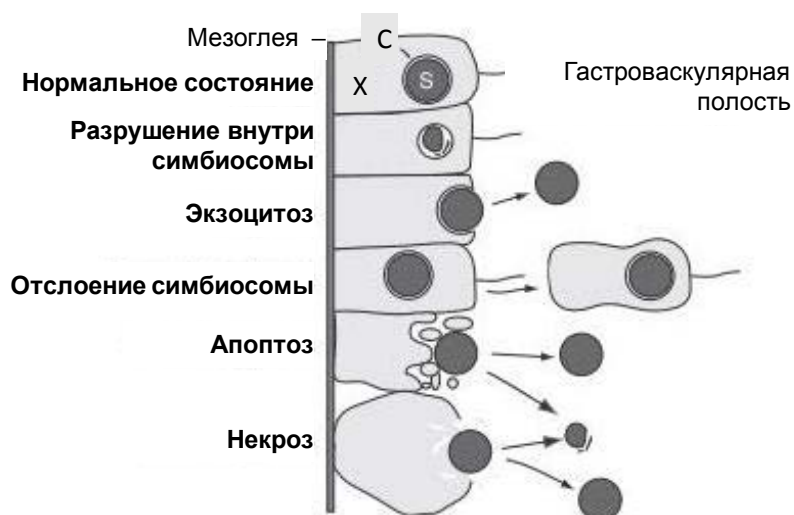


Рисунок 3 – Различные клеточные механизмы потери зооксантелл организмом-хозяином кишечнополостных. Гастродермальные клетки организма-хозяина (X) прикреплены к межклеточному веществу мезоглеи. Симбионты (C) находятся внутри клеток организма-хозяина [55]

Апоптоз является одной из форм запрограммированной гибели клеток, обнаруженной у Metazoa. Это чрезвычайно консервативный процесс в морфогенезе и гомеостазе тканей, а также в удалении поврежденных или инфицированных клеток [62]. Он характеризуется упорядоченным и приводящим к гибели каскадом морфологических изменений, включая уменьшение размеров клеток, фрагментацию ДНК, конденсацию хроматина и образование апоптотических телец, которые содержат упакованные остатки клеток. Инициация апоптоза может быть вызвана как внешними, так и внутренними сигналами. Центральным элементом каскада запуска апоптоза являются каспазы, семейство протеаз [62]. У кишечнополостных, подверженных тепловому стрессу, были обнаружены признаки апоптоза: увеличение каспазной активности, ДНК-фрагментация, обнаружение апоптотических телец и конденсированных ядер [49, 58, 63]. Один из внутренних путей инициации апоптоза включает высвобождение про-апоптотических молекул из митохондрий, включая фактор, индуцирующий апоптоз (AIF), и цитохром *c*, которые активируют каспазы [64, 65]. Другой внутренний путь включает активацию про-апоптотического транскрипционного фактора p53, который способствует инициации апоптоза [66]. Есть доказательства того, что уровень белка p53 в кораллах, подверженных стрессу, увеличивается [49]. Дан и коллеги предположили, что с помощью апоптоза организм, удаляя поврежденные клетки, смягчает повреждения тканей от АФК и тем самым поддерживает гомеостаз тканей [58].

Имеются свидетельства того, что другая форма гибели клеток, аутофагия, участвует в процессе обесцвечивания кораллов и что она связана с апоптозом [67]. Аутофагия – это

катаболический путь, который разрушает внутриклеточные компоненты посредством лизосомальной деградации. Используя аутофагию, клетки избавляются от устаревших, избыточных или поврежденных частей, таких как митохондрии, пероксисомы и аппараты Гольджи, но этот процесс также может привести и к гибели клеток [68]. Аутофагия участвует в различных ключевых клеточных процессах, включая клеточную дифференцировку, перестройку тканей, контроль роста и защиту клеток от инфекции [68]. В работе Данна и др. по изучению физиологии симбиотической актинии *Aiptasia pallida*, подверженной термическому стрессу, показано, что химическая индукция аутофагии вызывает массовое обесцвечивание при нормальной температуре окружающей среды, что позволяет предположить, что аутофагия играет роль в регуляции численности симбионтов [67]. Однако гипертермическое обесцвечивание подавляется только тогда, когда и аутофагия, и апоптоз подавляются одновременно. Исходя из этих данных, предполагается, что существует взаимосвязь между двумя формами гибели клеток, при этом, когда одна форма ингибируется, другая – индуцируется. Подобная связь между апоптозом и аутофагией наблюдается у позвоночных [69].

В отличие от апоптоза, некроз – это неконтролируемая гибель клеток, которая чаще всего вызывается внешними факторами, которые вызывают набухание клетки и ее содержимого, что в конечном итоге приводит к разрыву плазматической мембраны и высвобождению клеточного материала. Некроз клеток организма-хозяина был подтвержден морфологически в исследовании, где актинию *A. pallida* подвергали воздействию повышенных температур в течение различного времени [58].

Существует переход от апоптоза (при умеренном температурном стрессе и более короткой продолжительности) к некрозу при более жестких стрессовых условиях. Апоптоз при умеренных уровнях стресса необходим, чтобы поддержать гомеостаз тканей, устраняя поврежденные клетки, но при сильном стрессе физиологические процессы выходят из-под контроля, и начинает преобладать некроз [25, 60] (рис. 4).

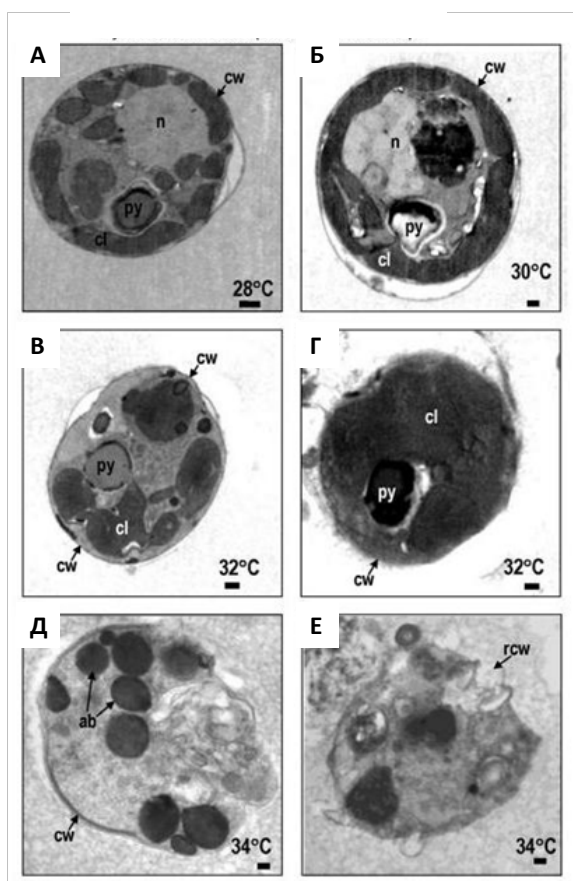


Рисунок 4 – Трансмиссионная электронная микроскопия клеток *Symbiodinium*, покинувших организм-хозяин мягкого коралла *Sinularia lochmodes* при температурах от 28°C до 34°C. Большинство клеток зооксантелл выглядели нормально при температурах 28°C и 30°C (А, Б). Через 12 часов теплового воздействия (32°C) появлялись признаки ранней и средней стадии обратимого апоптоза (В) и некроза (Г). Через 9 часов температурного воздействия (34°C) в большинстве клеток *Symbiodinium* наблюдались симптомы поздней стадии необратимого апоптоза (Д) и симптомы некроза (Е). Обозначения: ab - апоптотическое тело, chr - хромосома, cl - хлоропласт, cw - клеточная стенка, gx - глиоксисома, m - митохондрия, n - ядро, py - периноид, gcw - разорванная клеточная стенка, sg - крахмальное зерно. Масштаб = 500 нм [60]

1.3 Липиды кораллов

Измерение уровня общих липидов, содержания основных классов липидов и состава ЖК является одним из основных методических подходов в изучении эффективности репродуктивной стратегии кораллов, степени повреждения и скорости восстановления частично обесцвеченных рифов, пищевых и симбиотических отношений кораллов, а также транспорта органического углерода между организмом-хозяином и симбионтами [12-17]. Со времени первых скрининговых исследований кораллов [70] накоплена обширная информация о составе общих липидов и ЖК, полученных гидролизом общих липидов или их классов [8, 71, 72]. Появились первые результаты в области липидомики морских организмов, например, макроводорослей [73], кальмаров [74] и актиний [75]. Сведения о липидоме коралловых полипов, представителей класса Anthozoa, насчитывающих более 20 тысяч видов, ограничены описанием состава молекулярных видов ФЛ из четырёх альционарий [76-78] и ФХ из

рифообразующего коралла *Seriatopora caliendrum* [79]. Следует отметить, что в суммарный экстракт общих липидов кораллов входят ЭС и другие гидрофобные вещества, например, СТ, углеводороды и пигменты, состав которых в данной работе не рассматривается.

1.3.1 Рифообразующие кораллы

1.3.1.1 Содержание и состав общих липидов

Основная доля общих липидов рифообразующих кораллов содержится в полипах (кораллитах). Полипы погружены в поверхностный слой известкового основания с малым содержанием липидов. Чаще всего содержание липидов определяют, как долю от массы сухой биологической ткани после растворения карбонатного скелета; иногда долю общих липидов выражают, как отношение массы липидов к массе целой колонии. По данным работы Паттона и др. [80], в которой были исследованы 40 видов рифообразующих кораллов, количество общих липидов варьировалось от 1.3 мг (*Favia stelligera*) до 45.2 мг (*Goniopora gracilis*) на 1 г колонии коралла. Содержание липидов на сухой вес ткани для 12 видов рифообразующих кораллов о. Окинава колебалось от 14% для *Pocillopora verrucosa* до 37% для *Galaxea fascicularis*. [3]. НЛ составляли от 59 до 86% от суммы общих липидов рифообразующих кораллов [3, 6].

Содержание восков в общих липидах рифообразующих кораллов о. Окинава колебалось от 9.1 (*Tubastrea* sp.) до 31.4% (*Goniastrea aspera*) и составило в среднем $20.0 \pm 7.0\%$ [3]. Содержание ЭВ в рифообразующих кораллах Карибского моря составило от 22.3 ± 5.9 (*Pocillopora verrucosa*) до $48.6 \pm 14.1\%$ (*Stylophora pistillata*) от общих липидов [81]. Общие липиды герматипных кораллов *Fungia fungites* и *Goniastrea aspera* содержали более 30% ЭВ, а в асимбиотическом виде *Tubastrea* sp. ЭВ составили всего 9.1% от общих липидов. Содержание восков в рифообразующих кораллах зависит от сезона, например, доля ЭВ в *Goniastrea aspera* (о. Окинава) в летний период была в 1.5 раза больше, чем в зимний период [82].

Для липидов кораллов характерно присутствие МАДАГ, этерного класса липидов. В отличие от ТГ, в молекуле МАДАГ остаток глицерина в положении *sn*-1 содержит алкильную группу, присоединённую через простую эфирную связь, поэтому предполагается, что МАДАГ более устойчив к гидролизу активными липолитическими ферментами книдарий, чем ТГ [83]. Доля МАДАГ в общих липидах рифообразующих кораллов о. Окинава была меньше (от 1.0% для *Stylophora pistillata* до 9.3% для *Montipora aequituberculata*), чем доля ТГ (от 14.9 для *Pocillopora verrucosa* до 30.4% для *Galaxea fascicularis*) [3]. Липиды рифообразующих кораллов Карибского моря также содержали большое количество ТГ (от $18.1 \pm 5.0\%$ для *Porites porites* до $36.6 \pm 13.9\%$ для *Pocillopora verrucosa*) [81].

В общих липидах 12-ти видов рифообразующих кораллов, собранных у о. Окинава, доля ФЛ варьировалась от 14.3% в *Galaxea fascicularis* до 27.8% в *Pocillopora verrucosa* [3]. В исследовании 49 видов рифообразующих кораллов Южно-Китайского моря (Вьетнам) было показано, что полярные липиды составляют в среднем $15.5 \pm 5.3\%$ от общих липидов [8]. В зимние месяцы доля полярных липидов в общих липидах *Goniastrea aspera* составляла 15% от общих липидов, а в летний снижалась до 8–10% [82].

1.3.1.2 Состав ЖК общих липидов

Первое сравнительное исследование состава ЖК рифообразующих кораллов на современном уровне с использованием газовой хроматографии на капиллярной кварцевой колонке было выполнено Латышевым и соавторами [84]. Их результаты для *Pocillopora verrucosa* и *Stylophora pistillata* из вод Вьетнама и Сейшельских островов хорошо согласуются с данными Харланда и др., полученные для этих же видов кораллов Карибского моря [81]. Работы по изучению состава общих ЖК рифообразующих кораллов были продолжены на примере 3-х видов кораллов Красного моря [85], 12-ти видов о. Окинава [3] и 56-ти видов, собранных у побережья Вьетнама [8, 86]. В таблице 1 собраны сведения о составе ЖК, полученных гидролизом общих липидов кораллов рода *Acropora*.

Таблица 1 – Состав жирных кислот (% от суммы) общих липидов рифообразующих кораллов рода *Acropora*

Вид коралла	16:0	18:0	18:1n-9	18:3n-6	18:4n-3	20:4n-6	20:5n-3	22:4n-6	22:5n-3	22:6n-3
<i>A. nasuta</i> ^a	42.5	6.9	3.7	9.7	4.9	3.2	4.5	2.4	1.3	8.8
<i>A. millepora</i> ^a	24.5	9.3	2.2	9.5	6.6	7.2	10.4	6.0	3.0	12.6
<i>A. microphthalma</i> ^б	36.5	13.4	2.8	8.3	3.1	7.2	8.9	–	1.8	1.5
<i>A. cerealis</i> ^в	25.3	13.0	2.9	3.6	1.4	6.7	16.5	–	3.9	6.3
<i>A. palifera</i> ^в	42.2	20.4	3.3	2.6	1	1.8	9.9	–	1.7	3.3
<i>A. cytherea</i> ^г	31.5	3.8	7.0	10.9	4.1	4.1	3.7	1.8	1.8	7.6
<i>A. cytherea</i> ^г	28.6	6.4	5.8	9.7	3.0	6.8	3.1	3.4	1.9	7.0
<i>A. acuminata</i> ^г	33.4	4.4	9.7	10.8	2.2	2.8	2.9	1.8	1.9	7.1
<i>A. microphthalma</i> ^г	30.2	5.8	7.9	9.7	3.2	4.2	3.5	2.5	1.7	5.9
<i>A. hacinthus</i> ^г	21.8	7.4	4.2	8.0	5.7	9.9	6.2	5.2	2.8	6.4
<i>A. nobilis</i> ^г	29.8	4.7	7.4	9.4	3.1	3.2	5.6	2.0	2.9	6.4
<i>A. grandis</i> ^г	22.3	6.1	6.8	12.5	2.9	7.3	5.7	3.8	3.4	9.1
<i>A. samoensis</i> ^г	26.9	3.5	9.5	12.4	2.6	2.6	4.1	1.7	1.7	9.3
<i>A. humilis</i> ^г	29.8	3.0	9.1	15.0	2.3	2.5	4.0	1.3	2.4	8.7

^a[84]; ^б[3] ^в[86]; ^г[86].

Среди насыщенных ЖК кораллов рода *Acropora* преобладали кислоты 16:0 и 18:0; среди ПНЖК превалировали кислоты 18:3n-6, 20:4n-6, 20:5n-3 и 22:6n-3 (табл. 1). Анализ ЖК *A. millepora* и *A. nasuta* из различных мест обитания показал большие внутривидовые вариации состава ПНЖК [84]. Сумма ЖК маркеров зооксантелл (18:3n-6 и 18:4n-3) достигала 15%, а содержание 20:4n-6 не превышало 10% от общих ЖК. Отмечено, что ТГ обогащены насыщенными ЖК, тогда как ПНЖК сосредоточены в полярных липидах рифообразующих кораллов [8, 84, 86].

1.3.1.3 Молекулярные виды липидов

Данные по липидому рифообразующих кораллов очень ограничены. Танг и соавторы [79] изучили различия в профиле молекулярных видов ФХ и ЛФХ различных частей колоний рифообразующего коралла *Seriatopora caliendrum* (о. Тайвань). Основными молекулярными видами ФХ были 16:0/22:6, 16:0alk/20:4, 16:1alk/20:4, 16:0alk/20:5 и 18:0alk/20:4 (табл. 2). Около 60% всех молекулярных видов ФХ находились в алкилацильной форме. Содержание ЛФХ в липидах стеблей (0.28%) и ветвей (0.67%) полипа достоверно различалось ($p < 0.05$). Авторы предполагают, что увеличенное содержание ЛФХ в мембранах клеток ветвей полипа увеличивает проницаемость мембраны, что необходимо для быстрого обмена веществ в растущих частях коралла.

Таблица 2 – Состав основных молекулярных видов (% от суммы) холинглицерофосфолипидов (ФХ) из различных частей колонии (стебель и ветви) рифообразующего коралла *Seriatopora caliendrum* [79]

Молекулярный вид ФХ	Содержание, %	
	Ветви	Стебель
16:0/22:6	10.32±0.77	9.77±0.76
16:0alk/20:4	4.23±0.52	3.68±0.40
16:1alk/20:4; 16:0alk/20:5	1.88±0.22	1.81±0.29
18:0alk/20:4	1.34±0.23	1.35±0.16

В последующей работе [87] авторы исследовали влияние оксида цинка на профиль молекулярных видов ФХ липидов *S. caliendrum*. Колонии коралла также были поделены на части: ветви и стебель. Липиды из ветвей коралла в отличие от липидов стебля колонии содержали большое количество ФХ 16:0alk/20:4, другие молекулярные виды ФХ, содержащие остатки ПНЖК (16:0alk/20:5, 16:0alk/22:6, 18:0/22:6), и ЛФХ (табл. 3). Содержание насыщенных и моноеновых молекулярных видов (16:0alk/14:0 и 16:1alk/16:0) было больше в стеблях колонии этого коралла. Было отмечено, что мембранный липидный метаболизм существенно меняется

под действием оксида цинка, происходит увеличение ФХ с докозапентаеновой и докозагексаеновой кислотами и снижение количества ФХ с арахидоновой кислотой.

Таблица 3 – Профиль молекулярных видов ФХ и ЛФХ (% от суммы ФХ и ЛФХ, среднее $\pm$ SD, $n = 7$) рифообразующего коралла *Seriatopora caliendrum* [87]

Молекулярный вид	Содержание, %		Молекулярный вид	Содержание, %	
	Стебель	Ветви		Стебель	Ветви
лизо-16:0	0.38 $\pm$ 0.20	–	18:0alk/20:4	13.78 $\pm$ 1.09	–
лизо-18:0	0.24 $\pm$ 0.10	–	19:0alk/20:4	0.16 $\pm$ 0.02	0.18 $\pm$ 0.08
16:0/18:1	0.55 $\pm$ 0.09	0.37 $\pm$ 0.06	40:4alk	–	0.03 $\pm$ 0.01
16:0/22:5	1.52 $\pm$ 0.50	–	39:5		0.01 $\pm$ 0.00
лизо-18:0alk	0.36 $\pm$ 0.11	–	20:1alk/20:3	–	0.08 $\pm$ 0.02
16:0alk/14:0	0.36 $\pm$ 0.10	–	22:0alk/20:5	–	0.16 $\pm$ 0.04
16:0alk/22:6	3.58 $\pm$ 0.38	–	16:0alk/18:1	–	0.13 $\pm$ 0.04
18:0alk/22:6	1.97 $\pm$ 0.45	1.71 $\pm$ 0.25	16:0/22:6	–	8.62 $\pm$ 1.05
18:0/20:4	1.18 $\pm$ 0.27	–	16:0/18:5	–	0.02 $\pm$ 0.01
14:0alk/20:4	0.19 $\pm$ 0.03	–			
16:0alk/20:4	13.90 $\pm$ 1.02	–		–	
16:1alk/20:4	9.88 $\pm$ 1.02	–			

В дальнейшем Танг и др. [88, 89] изучили влияние ингибирующего фотосинтез гербицида иргарола 1051 на профиль основного структурного липида ФХ коралла *S. caliendrum*. Список идентифицированных диацильных молекулярных видов ФХ расширился, появились ФХ, содержащие ЖК маркеры зооксантелл C₁₈ ПНЖК (табл. 4). После нескольких дней воздействия гербицида на колонии коралла *S. caliendrum* фотоингибирование коррелировало с увеличением количеств ЛФХ и снижением количеств молекулярных видов ФХ с ПНЖК. Авторы считают, что повышение уровня устойчивых к окислению липидов (ЛФХ и насыщенных ФХ) помогает снизить восприимчивость мембраны к активным формам кислорода при фотоингибировании [89].

Таблица 4 – Профиль молекулярных видов ФХ и ЛФХ (% от суммы ФХ и ЛФХ) контрольных колоний рифообразующего коралла *Seriatopora caliendrum* [89]

Молекулярный вид	Содержание	Молекулярный вид	Содержание	Молекулярный вид	Содержание
лизо-16:0	1.86 $\pm$ 0.40	16:0/16:0	0.10 $\pm$ 0.03	18:2/18:2	0.54 $\pm$ 0.14
лизо-18:0	1.39 $\pm$ 0.27	18:0/18:0	0.06 $\pm$ 0.03	16:0/22:5	2.47 $\pm$ 0.50
лизо-16:0alk	0.84 $\pm$ 0.10	34:0	0.10 $\pm$ 0.04	20:0/22:5	0.10 $\pm$ 0.02
лизо-17:0alk	0.09 $\pm$ 0.03	16:0/16:1	0.19 $\pm$ 0.04	16:0/22:6	10.10 $\pm$ 1.51
лизо-18:0alk	1.41 $\pm$ 0.47	16:0/18:1	1.06 $\pm$ 0.22	36:6	0.16 $\pm$ 0.04
16:0alk/16:0	0.22 $\pm$ 0.09	16:0/18:2	0.63 $\pm$ 0.01	22:6/26:6	0.27 $\pm$ 0.07

Продолжение таблицы 4

18:0alk/16:0	0.50±0.11	16:0/18:3	1.18±0.17		
16:0alk/20:5	6.93±0.82	16:0/18:4	0.89±0.29		

В работе по суточной динамике липидного профиля различных клеточных компонентов (гастродермальные клетки коралла, липидные тельца симбиосом и зооксантеллы) склерактинии *Euphyllia glabrescens* был описан состав молекулярных видов ЭВ [90]. В симбионтах воски обнаружены не были, однако 4 молекулярных вида ЭВ присутствовали в гастродермальных клетках коралла и липидных тельцах, их концентрация менялась в зависимости от времени суток (табл. 5). Основным воском был пальмитоилпальмитат (16:0/16:0), наибольшая концентрация которого наблюдалось в светлое время суток в гастродермальных клетках организма-хозяина и липидных тельцах (14.5±2.3 и 29.6±1.9 нг/мкг белка, соответственно). Пальмитоилолеат был обнаружен только в липидных тельцах, и его концентрация была 9.9±0.7 и 18.0±1.6 нг/мкг белка в полдень и утром, соответственно.

Таблица 5 – Содержание молекулярных видов восков (среднее ± SD, нг/мкг белка) в гастродермальных клетках организма-хозяина и липидных тельцах коралла *Euphyllia glabrescens* в зависимости от времени суток [90]

Клетки/органеллы	Время суток	Молекулярный вид			
		16:0/14:0*	16:0/16:0	16:0/18:0	16:0/18:1
Гастродермальные клетки организма-хозяина	Утро	2.5±0.5	8.1±0.5	3.0±0.5	–
	Полдень	2.5±0.4	10.4±0.9	3.4±0.3	–
	Вечер	3.0±0.6	14.5±2.3	4.5±0.6	–
	Ночь	2.7±0.6	9.8±0.4	3.0±0.5	–
Липидные тельца	Утро	4.8±0.5	13.8±1.7	10.8±0.7	–
	Полдень	5.9±0.9	18.4±0.9	12.0±1.2	9.9±0.7
	Вечер	7.5±0.5	29.6±1.9	15.2±1.1	18.0±1.6
	Ночь	6.5±0.1	17.9±1.9	11.8±1.6	11.9±1.3

* алкил/ацил

1.3.2 Мягкие кораллы

Коралловый риф, помимо твердых кораллов, населяют мягкие кораллы (подкласс *Ostocorallia*), которые можно разделить на альционарии (*Alcyonacea*), содержащие в своих тканях известковые включения (спикулы), и горгонарии, каркас которых формирует кератиноподобный скелет. *Alcyonacea* – наиболее многочисленный отряд восьмилучевых кораллов, в котором различают до 40 родов и 1200 видов. Более 80% всех видов альционарий обитает на мелководье тропических морей Индо-Пацифики.

1.3.2.1 Состав и содержание общих липидов

Содержание липидов на сухой вес октокораллов варьируется от 3.2 до 29.7% [3, 91]. Антарктические мягкие кораллы *Alcyonium paessleri*, *Clavularia frankliniana* и *Gersemia antarctica* содержали 5.2–12.6% липидов [92]. Горгонарии *Bebryce indica* и *Mopsella aurantia* содержали 1.24 и 3.80% липидов от сухого веса колонии, соответственно [9]. В глубоководных видах кораллов липиды составили от 3.92 ± 1.38 (*Paramuricea* spp.) до $8.53 \pm 4.14\%$ (*Paragorgia arborea*) от сухого веса тканей горгонарий и от 10.50 ± 6.18 (*Anthomastus grandiflorus*) до $16.00 \pm 7.16\%$ (*Capnella florida*) от сухого веса тканей альционарий [6].

Основными классами неполярных липидов октокораллов являются воски, ТГ и МАДАГ. Липиды альционарии *Lobophytum crassum*, горгонарии *Paragorgia arborea* и альционарии *Capnella florida* содержали 14.6, 9.97 и 14.5% восков, соответственно [3, 6]. В холодноводной альционарии *Gersemia rubiformis* (Берингово море) и тропической альционарии *Xenia* sp. (Южно-Китайское море) доля восков составила 29.5 ± 4.9 и $21.4 \pm 1.8\%$ от суммы липидов, соответственно [76, 93]. Общие липиды мягкого коралла *L. crassum* (о. Окинава) содержали 8.9% ТГ и 9.5% МАДАГ [3]. Среднее содержание МАДАГ в общих липидах альционарий, собранных на глубинах 150–400 м в северных водах Атлантики (Ньюфаундленд и Лабрадор), составило от $13.7 \pm 8.2\%$ (*A. grandiflorus*) до $19.7 \pm 10.10\%$ (*C. florida*), а доля ТГ была меньше: от $5.59 \pm 3.38\%$ (*G. rubiformis*) до $10.40 \pm 5.11\%$ (*C. florida*) [6]. В липидах холодноводного вида *G. rubiformis*, обитающего на небольших глубинах в Беринговом море, количество МАДАГ ($9.7 \pm 2.8\%$) превышало количество ТГ ($6.7 \pm 1.9\%$) [93], тогда как липиды тропического вида *Xenia* sp. содержали примерно в два раза больше ТГ ($14.2 \pm 1.9\%$), чем МАДАГ ($7.7 \pm 4.3\%$) [76].

Мягкие кораллы содержат значительное количество полярных липидов (ПЛ), большую часть которых составляют фосфорсодержащие липиды (ФЛ): несколько классов фосфолипидов и фосфонолипид ЦАЭФ. В горгонариях Южно-Китайского моря ФЛ составили от 14.6 (*Psammogorgia nodosa*) до 32.7% (*Mopsella aurantia*) от общих липидов [9]. Липиды *L. crassum* (о. Окинава) и *G. rubiformis* (Берингово море) содержали 23.7 и 31.1% ФЛ, соответственно [3] [93]. В работе Имбса и др. [8] для ФЛ составили в среднем $32.1 \pm 10.3\%$ от суммы липидов 58 видов мягких тропических кораллов.

Основными классами ФЛ кораллов являются ФХ, ФЭ и ФС. Ранее, среди ФЛ горгонарий Южно-Китайского моря были обнаружены ФЭ, ФС, ФХ и ЦАЭФ (табл. 6) [9]. Эти данные дополняются работой по исследованию 22 видов альционарий из прибрежных вод Вьетнама, относящихся к трем родам – *Sinularia*, *Lobophytum* и *Sarcophyton*, где были идентифицированы ФХ, ФЭ, ФС, ЦАЭФ, ФИ, дифосфатидилглицерид (ДФГ) и фосфатидная кислота (ФК), а также лизо-формы ФХ, ФЭ и ФС (табл. 6) [10]. Основными классами ФЛ из *G. rubiformis* были ФХ ($31.4 \pm 6.2\%$), ФЭ ($25.6 \pm 1.5\%$), ФС ($14.1 \pm 3.2\%$), ЦАЭФ ($15.6 \pm 1.4\%$) и

церамидметиламиноэтилфосфонат (ЦМАЭФ) ($13.3 \pm 3.0\%$) [93]. Присутствие ЦАЭФ характерно для всех видов кишечнорастворимых. Предполагается, что этот класс липидов, в котором есть Р-С связь, повышает устойчивость мембран клеток кишечнополостных к действию высокоактивных липолитических ферментов [83]. В зависимости от химической природы заместителей в *sn*-1 и *sn*-2 положениях остатка глицерина в молекуле ФЛ, различают диацильную, алкилацильную и алкенилацильную (плазмалогенную) форму ФЛ кораллов; доля последней формы может составлять 15–28% от ФХ, 58–94% от ФЭ и 21–47% от ФС [10].

Таблица 6 – Содержание отдельных классов ФЛ (% от суммы) трех видов горгониевых кораллов [9] и трех видов альционарий [10]

Класс липидов	Горгониевые кораллы			Альционарии		
	<i>Psammogorgia nodosa</i>	<i>Bebryce indica</i>	<i>Mopsella aurantia</i>	<i>Sinularia polydactyla</i>	<i>Lobophytum carnatum</i>	<i>Sarcophyton cinereum</i>
ФЭ	27.7±1.4	5.4±0.9	13.6±0.4	17.8	15.9	22.3
ФХ	26.2±0.8	15.1±0.4	21.4±1.1	34.9	29.1	29.9
ФС	19.8±1.3	10.1±0.4	15.7±0.5	15.0	13.2	17.4
ЦАЭФ	10.5±0.8	13.7±1.6	9.8±0.5	4.6	13.3	8.4
ФИ	3.1±0.8	3.9±0.4	3.4±0.3	4.9	4.1	5.6
ЛФХ	2.4±1.1	8.7±1.0	8.6±0.4	9.9	4.7	9.1
ЛФЭ	–	11.7±0.8	2.7±0.5	4.3	3.1	1.8
ДФГ	–	–	–	5.0	4.0	2.5
ФК	–	–	–	3.4	4.5	2.2
ЛФС	–	–	–	–	3.7	–

1.3.2.2 Состав ЖК общих липидов

Состав ЖК общих липидов шестилучевых кораллов (Hexacorallia), к которым относятся рифообразующие кораллы, и восьмилучевых кораллов (Octocorallia), которые включают альционарии, различаются наличием в представителях Octocorallia двух тетракозаполиеновых ЖК, $24:5n-6$ и $24:6n-3$ (ТПЖК). Высоцкий и Светашев [94] определили состав ЖК общих липидов тропической альционарии *Sarcophyton* sp., бореальных альционарий *Eunephthya* sp. и горгонии *Paragorgia arborea* и впервые постулировали, что ТПЖК являются хемотаксономическими маркерами подкласса Octocorallia. ТПЖК синтезируются в клетках коралловых полипов без участия симбионтов и могут быть липидными маркерами организма-хозяина в симбиотических видах [95].

Типичными представителями мягких кораллов являются альционарии рода *Sinularia*, все виды которого содержат зооксантеллы. Среди ЖК общих липидов *Sinularia* sp., собранной на мелководье Вьетнама, преобладали насыщенные ЖК $16:0$ (47.0%) и $18:0$ (10.7%) [96]. Среди ЖК отмечено значительное количество моноеновых и диеновых ЖК (3.0% $16:1n-7$, 4.8% $18:1n-9$, 5.2% $16:2n-7$ и 4.0% $18:2n-6$), присутствие маркеров зооксантелл (1.3% $18:3n-6$ и 1.4% $18:4n-$

3) и также ТПЖК (1.7% 24:5n-6 и 0.7% 24:6n-3), тогда как кислота 20:4n-6 составила 4.2% от суммы ЖК общих липидов. ТГ и МАДАГ в основном содержали насыщенные ЖК, а полярные липиды *Sinularia* были обогащены ПНЖК (18:4n-3, 20:4n-6, 20:5n-3 и 24:5n-6).

Имбсом и Латышевым был изучен состав ЖК десяти видов из рода *Sinularia* [97]. Основными ЖК были 14:0, 16:0, 7-Ме-16:1n-10, 16:1n-7, 16:2n-7, 18:0, 18:1n-9, 18:4n-3, 20:4n-6, 20:5n-3, 22:6n-3, 24:5n-6 и 24:6n-3. ПНЖК n-6 серии преобладали у всех видов. Содержание 20:4n-6 варьировалось от 10.2 до 23.8% от суммы ЖК. Основной n-3 ПНЖК была 18:4n-3 (в среднем 5.4%); типичные ПНЖК морских организмов, 20:5n-3 и 22:6n-3, составили не более 2.4 и 3.9% от суммы ЖК, соответственно. Отмечено, что ПНЖК синулярий могут продуцироваться в симбионтах, в тканях организма-хозяина или могут быть получены с пищей. Зооксантеллы следует рассматривать как источник C₁₆ ПНЖК и 18:4n-3, а кислоты 18:2n-7, 24:5n-6 и 24:6n-3 синтезирует сам полип. Уровень 20:4n-6 может быть показателем вклада гетеротрофного способа питания [97].

Десять видов синулярий были использованы в работе по сравнению состава ЖК тропических мягких кораллов, включающих 39 видов альционарий и 19 видов горгонарий, при этом один род альционарий (*Dendronephthya*) и 6 родов горгонарий являлись асимбиотическими животными [8]. Основными ЖК исследованных видов синулярий были 16:0, 20:4n-6 и 22:6n-3, так же в заметных количествах содержались ТПЖК и маркеры зооксантелл, 18:3n-6 и 18:4n-3 (табл. 7). Симбиотические виды мягких кораллов содержали достоверно больше 16:0, 18:3n-6, 18:4n-3 и 16:2n-7 (табл. 7). Статистический анализ состава ЖК методом главных компонент показал достоверное различие кораллов рода *Sinularia* от кораллов родов *Lobophytum* и *Sarcophyton* при максимальном влиянии ПНЖК n-3 серии (18:4n-3, 20:4n-3 и 24:6n-3) [8].

Таблица 7 – Состав ЖК (% от суммы) общих липидов альционарий Южно-Китайского моря [96]

Жирная кислота	<i>Sinularia cf. robusta</i>	<i>Sinularia brassica</i>	<i>Sinularia polydactyla</i>	<i>Lobophytum ransoni</i>	<i>Sarcophyton regulare</i>	<i>Dendronephthya cf. pulchella</i>
14:0	2.7	5.8	1.4	1.2	1.7	1.7
16:0	23.1	19	30.1	24.8	35.4	12.7
16:1n-7	2.8	3.8	1.7	1.4	2.6	1.5
16:2n-7	9.4	0.4	5.7	4.2	5.9	1.6
7-Ме-16:1	0.4	0.3	0.2	1.3	1.3	5.0
16:4	0.8	1.7	0.4	0.3	0.1	1.7
18:0	3.9	3.3	11	5.9	5.3	6.4
18:1n-9	1.9	2.8	2.9	1.8	2.8	3.3
18:1n-7	0.2	0.3	0.5	0.2	0.2	1.6

Продолжение таблицы 7

18:2	0.5	0.6	0.7	0.7	0.5	–
18:2n-7	1.0	–	5.0	1.4	0.7	–
18:2n-6	0.4	1.8	0.6	0.2	0.2	1.1
18:3n-6	2.9	8.4	0.5	–	0.7	–
18:4n-3	4.1	3.3	2.6	3.7	4.5	0.8
20:0	0.6	0.5	1.2	0.7	0.7	0.4
20:1n-9	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	–
20:3n-6	0.6	1.1	1.1	0.2	0.3	–
20:4n-6	16.8	17.4	13.6	24.1	18	28.3
20:4n-3	0.7	0.4	1.1	0.7	0.5	0.5
20:5n-3	3.4	3.9	1.0	3.4	1.2	3.7
22:0	0.4	0.3	1.3	–	0.3	–
22:4n-6	0.4	–	0.5	–	0.4	1.1
22:5n-6	0.2	–	0.4	–	0.2	1.1
22:5n-3	–	–	0.3	–	–	–
22:6n-3	6.4	8.2	1.7	2.9	2.2	2.5
24:5n-6	5.1	5.9	5.2	7.6	7.0	11.8
24:6n-3	1.8	3.0	1.0	2.1	0.7	2.4
Другие	9.3	1.5	8.1	11.0	6.4	10.8

Основными ЖК асимбиотических альционарий рода *Dendronephthya* были 24:5n-6 (12.7%), 16:0 (12.1%), 18:0 (6.0%), 7-Me-16:1n-10 (4.8%), 24:6n-3 (4.0%) и 20:4n-6 (2.0%) (табл. 7) [98] [8]. Основными ЖК синулярий, также, как и других симбиотических видов альционарий из родов *Sarcophyton*, *Lobophytum*, *Cladiella*, *Lytrophyton*, *Cespitularia* и *Clavularia*, были 16:0 (25.7%), 20:4n-6 (18.2%), 24:5n-6 (6.2%) и 18:4n-3 (5.6%), а также 16:2n-7, содержание которой в *Sarcophyton aff. crassum* доходило до 11.8%. Кораллы с зооксантеллами имели низкое содержание 24:6n-3 [98]. В работах [96, 98] нет упоминания о 18:5n-3, характерной для зооксантелл, потому что в этих работах для гидролиза липидов при получении ЖК использовали щелочные условия, в которых 18:5n-3 деградирует в результате миграции двойных связей [99].

В составе ЖК общих липидов симбиотической альционарии *Xenia* sp., собранной у берегов Вьетнама, основными кислотами были 16:0, 18:3n-6, 20:4n-6 и 20:5n-3 (табл. 8). Среди них были обнаружены как маркеры зооксантелл (18:4n-3 и 18:5n-3), так и маркеры октокораллов (24:5n-6 и 24:6n-3). Кислоты 18:5n-3, 20:4n-6, 22:4n-6, и 24:5n-6 были сконцентрированы в полярных липидах, а 14:0, 16:0, 16:1n-7, 18:2n-6 и 18:3n-6 были основными ЖК нейтральных липидов [76].

Таблица 8 – Состав жирных кислот (ЖК, % от суммы, среднее $\pm$ SD) общих, нейтральных и полярных липидов (ОЛ, НЛ и ПЛ) мягкого коралла *Xenia* sp. [76]

ЖК	ОЛ	НЛ	ПЛ	ЖК	ОЛ	НЛ	ПЛ
14:0	5.5±0.8	6.7±0.2	0.9±0.6	18:5n-3*	0.7±0.2	0.2±0.1	2.2±0.8
16:0	18.1±2.1	30.5±1.5	8.7±1.4	20:3n-6	1.2±0.6	1.1±0.5	0.6±0.1
16:1n-9	2.3±0.2	1.1±0.9	0.5±0.1	20:4n-6*	16.9±3.9	2.7±0.8	27.5±3.3
18:0	5.5±2.0	7.0±1.8	6.9±2.3	20:5n-3	6.9±0.7	3.4±0.7	4.4±0.8
18:1n-9*	2.3±0.4	4.5±0.5	0.8±0.1	22:0	0.3±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1
18:2n-6*	1.5±0.2	2.5±0.1	0.4±0.1	22:4n-6*	3.1±0.6	0.6±0.2	9.1±1.4
18:3n-6*	13.1±1.8	15.3±0.4	5.3±1.1	22:6n-3	5.2±1.3	5.7±2.4	1.6±0.7
18:4n-3	4.7±0.8	2.8±0.7	5.1±1.4	24:5n-6*	1.4±0.2	0.2±0.1	5.1±0.7
20:0	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.3	0.6 ± 0.2				

*Содержание ЖК нейтральных и полярных липидов достоверно отличаются (t-test $p < 0.01$)

Холодноводные виды мягких кораллов не содержат зооксантелл, поскольку зооксантеллы не могут существовать при температуре воды ниже 12°C, что отражается на профиле общих ЖК холодноводных кораллов. Основными ЖК холодноводной альционии *Gersemia rubiformis* (Берингово море) были 16:0, 18:1n-9, 20:1n-7, 20:4n-6, 20:5n-3, 24:5n-6 и 24:6n-3 (7.4±2.2, 3.8±1.0, 9.5±1.4, 22.8±4.7, 16.5±3.4, 5.9±1.3 и 4.4±1.2% от суммы ЖК, соответственно) [93]. В составе ЖК неполярных липидов *G. rubiformis* основными были 16:0, 18:1n-9, 20:1n-7, 20:4n-6 и 20:5n-3 (10.4±1.9, 5.8±1.3, 5.7±0.4, 10.8±0.3 и 23.1±6.4% от суммы ЖК, соответственно). В полярных липидах этой альционии было в два раза меньше насыщенных и моноеновых ЖК, чем в нейтральных липидах, а сумма ТПЖК в полярных липидах *G. rubiformis* была в полтора раза выше, чем в общих липидах, и составила 14.7% от суммы ЖК. Главными ЖК полярных липидов *G. rubiformis* были 20:1n-7, 20:4n-6, 20:5n-3 и 24:5n-6 (7.2±2.7, 39.1±3.2, 13.6±3.9 и 11.4±2.1% от суммы ЖК, соответственно). Представители холодноводных альционий из семейства Nephtheidae и горгоний из семейств Paragorgiidae, Primnoidae, и Acanthogorgiidae, выловленных на северо-востоке Охотского моря, имели сходный профиль ЖК общих липидов [100]. Основными ЖК были 20:4n-6, 20:5n-3, 24:5n-6 и 24:6n-3. Источником небольшого количества кислоты 18:4n-3 (0.5–0.8%), обнаруженной в ЖК этих четырёх асимбиотических семейств, могут быть ЖК свободноживущих динофлагеллят, передаваемых кораллам по пищевой цепи.

1.3.2.3 Молекулярные виды липидов мягких кораллов

Сведения о липидоме альционий ограничены описанием состава молекулярных видов полярных липидов трех тропических и одного холодноводного видов [76-78]. Первый анализ полярного липида коралла был сделан на примере тропической альционии *Xenia* sp. [76]. Основными классами ФЛ этого вида были ФЭ, ФХ, ФС, ФИ и ЦАЭФ. С помощью сочетания высокоэффективной жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии высокого разрешения идентифицировали 32 молекулярных вида ФЛ, в которых преобладали 18:0alk/20:4

ФХ (20.5%), 18:1alk/20:4 ФЭ (18.0%), 18:0alk/24:5 ФС (14.0%), 16:0 ЦАЭФ (9.6%) и лизо-18:0 ФХ (4.1%) (табл. 9). Алкилацильная форма преобладала в молекулярных видах ФЭ, ФХ и ФС, а диацильная форма – в ФИ. Основной кислотой ФС была 24:5n-6, а 20:4n-6 преобладала в ФЭ и ФХ.

В работе Имбса и др [77] исследовали распределение ТПЖК между различными классами ФЛ в альционариях *Sinularia macropodia* и *Capnella* sp., собранных у побережья Вьетнама. Идентифицировали более 32 молекулярных видов четырех классов фосфолипидов (ФЭ, ФХ, ФС и ФИ) (табл. 9). Молекулярные виды ФЭ 18:1alk/20:4, ФХ 18:0alk/20:4, ФС 18:0alk/24:5 и ФИ 18:0/24:5 были основными среди фосфолипидов *S. macropodia* и *Capnella* sp. Как и в предыдущей работе [76], среди молекулярных видов ФХ и ФС преобладали алкилацильные формы. ТПЖК были основными кислотами, входящими в состав ФС, а 20:4n-6 входила в состав большинства молекулярных видов ФЭ и ФХ. Предполагается, что такое распределение ПНЖК является специфической чертой биосинтеза ФЛ альционарий. Молекулярные виды ФС и ФИ, в состав которых входят ТПЖК, могут быть использованы, как маркеры тканей полипов кораллов [77].

В дальнейшем установили полярный липидом асимбиотической альционарии *G. rubiformis* из Охотского моря [78]. Было идентифицировано 68 молекулярных видов фосфолипидов (ФХ, ФЭ, ФС и ФИ) (табл. 9). Обнаружили существенное сходство полярного липида холодноводной альционарии *G. rubiformis* и тропических видов альционарий. Основными молекулярными видами были ФЭ 16:1alk/20:4, ФХ 16:0alk/20:4, ФС 20:1/24:5 и ФИ 16:0/24:5. Так же, как и в тропических альционариях, ТПЖК концентрировались в ФС и, частично, в ФИ. Среди ПЛ холодноводной альционарии были обнаружены интересные алкилацильные и диацильные молекулярные виды, которые отсутствовали у тропических альционарий, например, ФЭ 20:1alk/20:4, ФЭ 20:2alk/20:4, ФХ 20:1alk/20:4, ФХ 20:1alk/20:5, ФХ 20:1/20:5, ФС 20:1alk/24:5, ФС 20:1alk/24:6, ФИ 20:1/20:4 и ФИ 20:1/20:5. Присутствие молекулярных видов, содержащих C₂₀ мононенасыщенные ацильные и алкильные группы, является специфической особенностью липида *G. rubiformis* [78]. Кислота 20:1n-7 образуется путем элонгации 18:1n-7, одного из липидных маркеров бактерий, поэтому авторы предположили, что наличие таких молекулярных видов связано с отсутствием зооксантелл и наличием более развитого бактериального сообщества в асимбиотических кораллах. Близость профилей полярных липидомов холодноводных и тропических видов свидетельствует о схожих путях биосинтеза ФЛ у альционарий из различных мест обитания [78].

Таблица 9 – Профиль молекулярных видов фосфолипидов (% в классе ФЛ) альционарий *Xenia* sp. (Xs) [76], *Sinularia macropodia* (Sm), *Capnella* sp. (Cs) [101] и *Gersemia rubiformis* (Gr) [78]

Молекулярный вид	<i>Xs</i>	<i>Sm</i>	<i>Cs</i>	<i>Gr</i>	Молекулярный вид	<i>Xs</i>	<i>Sm</i>	<i>Cs</i>	<i>Gr</i>
ФИ					ФЭ				
16:0e/20:4	–	–	–	5.9	18:1alk/20:4	86.4	56.0	41	19.2
16:0/18:1	–	–	2.6	–	18:1alk/20:5	–	–	–	7.3
16:0/18:2	–	–	1.8	–	18:0alk/20:4	–	16.7	23	1.9
18:1alk/20:4	–	–	–	5.2	19:0alk/20:4	2.6	–	–	–
18:0alk/20:4	4.8	–	8.3	–	16:1alk/20:4	2.4	–	–	28.1
18:0alk/20:5	–	–	–	2.9	16:1alk/20:5	–	–	–	12.2
18:0alk/22:4	–	–	3.9	–	16:1alk/22:6	–	–	–	2.5
16:0/20:4	–	–	–	4.9	16:0alk/20:4	0.6	2.4	–	0.9
16:0/20:5	–	–	–	4.5	17:1alk/20:4	–	–	–	4.7
16:0/22:4	–	–	–	1.8	17:1alk/20:5	–	–	–	1.4
16:0/22:5	–	–	–	2.7	18:1alk/22:6	–	–	–	2.2
16:1/22:6	1.5	–	–	–	18:0alk/24:5	–	–	2.1	–
16:0/22:6	13.0	–	11.5	–	18:1/20:4	–	–	2.8	0.8
16:0/24:5	–	6.0	–	16.4	18:2/20:4	–	17.1	31	0.5
16:0/24:6	–	–	–	4.8	20:1alk/20:4	–	–	–	1.4
17:0/20:4	–	–	–	15.4	20:2alk/20:4	–	–	–	6.4
17:0/24:6	–	–	–	2.7	другие	8.0	7.8	0.2	10.6
18:0/20:4	1.9	–	–	4.5	ФХ				
18:0/20:5	–	–	–	2.7	16:0alk/16:2	–	3.6	–	–
18:0/22:4	33.1	20	26.5	–	16:0alk/18:4	24.0	–	–	–
18:0alk/24:5	1.7	–	4.2	1.8	16:0alk/18:2; 18:0alk/16:2	6.0	7.8	4.4	–
18:0/20:3	0.8	–	2.6	–	16:0alk/18:3	–	6.8	2.1	–
18:1/22:6	1.4	–	–	–	16:0alk/18:4	–	8.0	2.1	–
18:0/22:6	8.0	–	–	–	16:0alk/20:4	15.8	23.9	10.8	19.6
18:0/22:5; 16:0/24:5	8.0	–	–	–	16:0alk/20:5	–	–	–	18.2
18:0/24:6	16.1	11	–	–	16:0/20:4	–	–	–	2.0
18:0/24:5	6.1	63	38.5	–	16:0/20:5	–	–	–	3.3
20:1/20:4	–	–	–	10.1	17:0/20:4	–	–	–	4.0
20:1/20:5	–	–	–	6.9	18:1alk/20:4	–	–	–	10.0
другие	3.6	–	0.1	6.9	18:1alk/20:5	–	–	–	7.7
ФС					18:0alk/20:4	51.9	29.6	63.1	1.5
16:0alk/24:5	–	0.8	–	2.3	18:0alk/18:1	–	1.5	–	–
18:1alk/24:5	7.6	–	–	8.0	18:0alk/18:2	–	4.9	4.1	–
18:1alk/24:6	–	–	–	2.5	18:0alk/18:3	–	9.7	4.3	–
18:0alk/24:5	68.4	84	77.9	14.7	18:0alk/20:5	–	–	–	2.0
18:0/24:5	–	–	–	2.1	18:2/20:4	–	–	–	1.1
18:0alk/24:6	–	15	22.1	3.4	19:1/20:4	–	–	1.4	–
20:1alk/24:5	–	–	–	13.2	20:1alk/20:4	–	–	–	4.2
20:1alk/24:6	–	–	–	4.9	20:1alk/20:5	–	–	–	3.1

Продолжение таблицы 9

20:1/22:4	–	–	–	0.9	20:1/20:5	–	–	–	1.9
20:1/22:5	–	–	–	1.3	другие	2.3	4.2	7.7	21.5
20:1/24:5	–	–	–	43.0					
другие	24.0	–	–	3.6					

1.3.3 Зоантарии

Среди коралловых полипов зоантарий (отряд Zoanthidea, подкласс Hexacorallia) насчитывается около 150 видов, освоивших различные биотопы – от мелководий до больших глубин [102]. Колонии зоантарий входят в состав экосистемы тропических коралловых рифов, некоторые представители этого отряда обрастают твёрдые субстраты или тела других малоподвижных морских организмов [102].

Информации о липидах зоантарий совсем немного. Мираллес и др. [103] обнаружили, что основными ЖК общих липидов пяти видов зоантарий рода *Palythoa* были 16:0, 16:1n-7, 18:0, 18:1n-9, 22:4n-6, 22:5n-6 и 22:5n-3, но ничего не сообщили о наличии C₂₄ ЖК. Карбаллейра и Рейс [104] исследовали состав ЖК фосфолипидов *Palythoa caribaeorum*. Основными классами фосфолипидов этой зоантарии были ФЭ, ФХ и ФС, среди ЖК доминировали 16:0, 18:3n-3, 20:4n-6, 22:4n-6 и 22:5n-3, присутствовали 24:0 и 24:2, а ПНЖК составили 20% от суммы ЖК.

В составе общих липидов зоантарии *Palythoa caesia* идентифицировали ПЛ (31.7±3.8%), стеролы (11.8±1.3%), ТГ (8.1±1.4%), МАДАГ (11.9±1.8%) и воски (34.3±3.2% от суммы липидов) [105]. Основными ЖК липидов *P. caesia* были насыщенные 16:0 и 18:0 (табл. 10). Среди моноеновых кислот были идентифицированы 7-Me-16:1n-10, 16:1n-7 и 18:1n-9. Основным ПНЖК были 20:4n-6, 22:4n-6 и 22:5n-3, так же обнаружены C₁₈ ПНЖК, которые считаются маркерами зооксантелл, и редкие для коралловых полипов ЖК: 24:2(Δ5,9), 24:3(Δ5,9,15) и 24:3(Δ5,9,17).

Таблица 10 – Состав ЖК (% от суммы) общих липидов зоантарии *Palythoa caesia*. [105]

ЖК	Содержание, %	ЖК	Содержание, %	ЖК	Содержание, %
14:0	2.19±0.33	18:3n-6	2.33±0.67	22:4n-6	4.62±0.89
16:1n-7	3.85±1.01	18:4n-3	3.24±0.55	22:5n-3	6.52±1.13
7-Me-16:1	4.52±0.54	18:0	9.91±1.37	22:6n-3	1.85±0.46
16:0	29.45±2.87	20:3(Δ5,11,14)	1.10±0.17	22:0	1.23±0.27
18:1n-9	3.90±0.48	20:4n-6	10.34±1.03	24:3(Δ5,9,15)	0.31±0.05
18:1n-7	1.42±0.05	20:5n-3	3.38±0.70	24:3(Δ5,9,17)	0.32±0.06
18:2n-6	1.14±0.14	20:0	1.84±0.31		

1.3.4 Зооксантеллы

Первоначально зооксантеллы, описанные еще в 19-м веке Брандтом, были отнесены к единственному пандемическому виду, *Symbiodinium microadriaticum*, присутствующему в книдариях, а также во многих других организмах-хозяевах (Mollusca, Platyhelminthes, Porifera, Foraminifera) [22]. С развитием молекулярной биологии и современных методов секвенирования род *Symbiodinium* был разделен на девять больших групп или кладов, обозначаемых латинскими буквами от А до I [106]. В последние десятилетия с появлением молекулярных технологий широкое распространение получило положение о том, что клады *Symbiodinium* содержат многочисленные «подклады», «типы», или «штаммы» [107]. В настоящее время предполагается, что различные клады и подклады зооксантелл являются различными видами или родами одного семейства Symbiodiniaceae (рис. 5) [107]. Ассоциация фотосинтетических симбионтов и книдарии является сложной системой, в которой клады и подклады зооксантелл находятся в динамическом равновесии между собой и другими микроорганизмами в зависимости от условий окружающей среды [22].

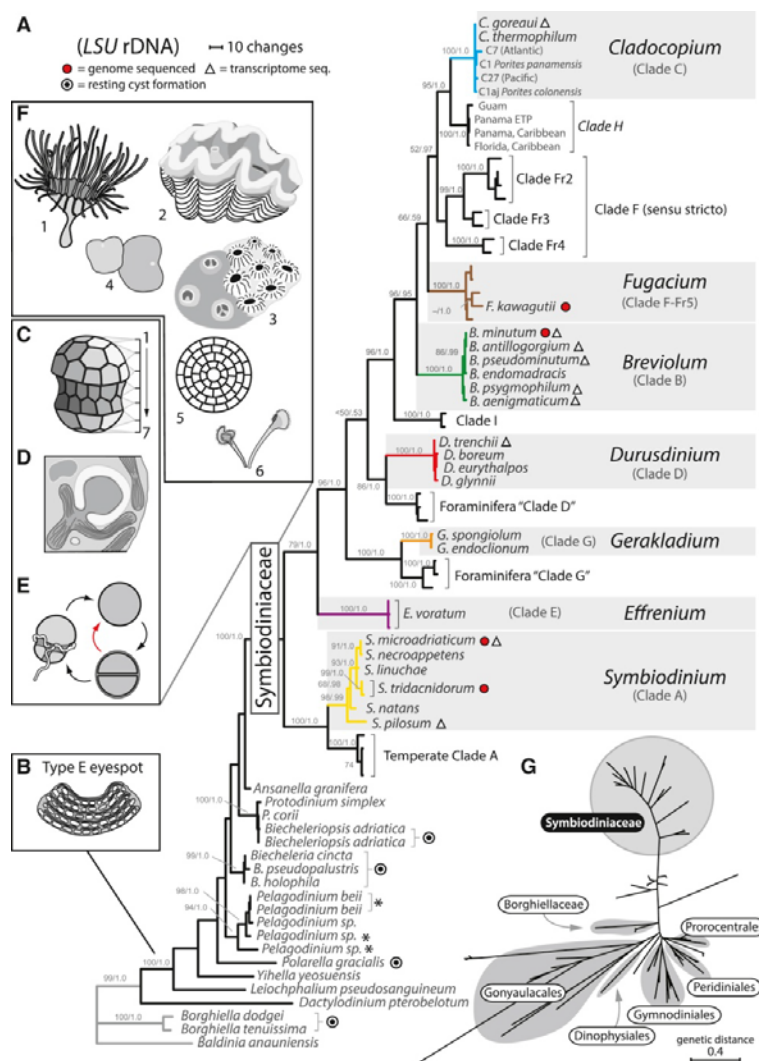


Рисунок 5 – Предлагаемые новые роды семейства Symbiodiniaceae и филогения рДНК LSU, отражающая их эволюционные взаимоотношения, включая остальные линии, которые требуют родовых названий (А – Е). Символы рядом с концевыми ветвями указывают виды, чьи геномы или транскриптомы секвенированы (красные круги), таксоны образуют цисты покоя (черный круг), и таксоны не Symbiodiniaceae, но являющиеся эндосимбионтами (звездочки). Общие черты предков указаны на дереве: (В) самый последний общий предок, имеющий линзу с глазным пятном, включающую несколько цистерн, содержащих кристаллы мочевой кислоты, (С) клетки с мастиготами, обладающими только семью широтными сериями амфизальных пузырьков, (D) клетки, имеющие один пиреноид, окруженный отложениями крахмала и внутренним матриксом, лишенным тилакоидных удлинений, и (Е) жизненный цикл клетки с преобладающей коккоидной (метаболически активной вегетативной клеткой) фазой, которая делится в организме хозяина, производя дочерние коккоидные клетки. (F) Организмы-хозяева для родов семейства Symbiodiniaceae: (1) Cnidaria, (2) Mollusca, (3) Porifera, (4) Platyhelminthes, а также одноклеточные эукариоты, такие как (5) Foraminifera и (6) инфузории. (G) Филогения LSU рДНК, основанная на максимальной вероятности, показывающей генетические расстояния и эволюционные связи между основными группами Dinophyceae по сравнению с Symbiodiniaceae [107]

1.3.4.1 Липиды зооксантелл

Колонии кораллов и выделенные из них зооксантеллы резко отличаются по составу липидов. На примере рифообразующего коралла *Pocillopora capitata* было показано, что липиды зооксантелл составляют примерно 19% от суммы липидов целой колонии [108]. Запасные липиды (воски и ТГ) составили 75% от общих липидов *P. capitata*, при этом лишь 8% этой группы липидов принадлежало зооксантеллам. Структурные липиды (стерины, фосфолипиды и гликолипиды) составили 16% от общих липидов *P. capitata* и 67% от суммы липидов чистой фракции зооксантелл этого коралла [108].

Из мягкого коралла *Clavularia viridis* (о. Окинава) получили чистые фракции зооксантелл и тканей организма-хозяина [109]. Для определения чистоты фракций использовали анализ состава структурных липидов и общих ЖК. Установили, что липиды зооксантелл содержат несколько классов ГЛ и небольшое количество ФЛ. В липидах тканей полипа основными структурными липидами были ФЛ, а ГЛ обнаружили в следовых количествах, что, по мнению авторов, подтверждало чистоту фракции тканей хозяина. Общие ЖК полипов и зооксантелл *C. viridis* содержали 38.2 и 10.4% кислоты 20:4n-6, а также 0.5 и 43.1% кислоты 20:5n-3, соответственно. Низкое содержание 20:4n-6 в ЖК зооксантелл использовали, как подтверждение чистоты этой фракции.

Липиды зооксантелл и ткани рифообразующего коралла *Montipora digitata* имели схожий качественный состав ЖК, но их процентное содержание существенно отличалось (рис. 6) [14]. Кислота 16:0 была основным компонентом ЖК общих липидов зооксантелл и полипа (32.7 и 50.2%, соответственно). Другими доминирующими ЖК зооксантелл были 18:3n-6, 18:1n-9, 18:0, 18:4n-3, 16:1, 22:6n-3 и 20:5n-3. Основными компонентами профиля ЖК липидов организма-хозяина были 16:1, 18:0, 18:1n-9, 18:3n-6, 22:4n-6 и 20:4n-6. Следовые количества кислот 18:3n-3 и 18:5n-3 были найдены в липидах зооксантелл и отсутствовали в полипах. ЖК с нечетным числом атомов углерода и 18:1n-7 (маркеры бактерий) в небольших количествах были

обнаружены в липидах организма-хозяина *M. digitata*. Содержание ПНЖК, ЖК n-3 серии и 18:2n-6 было больше в липидах зооксантелл, но процент 16:0 был существенно меньше, чем в липидах тканей полипа. Присутствие в липидах полипов 18:3n-6 и 18:4n-3, маркерных ЖК зооксантелл, рассматривалось как доказательство транспорта ПНЖК от зооксантелл к организму-хозяину [14].

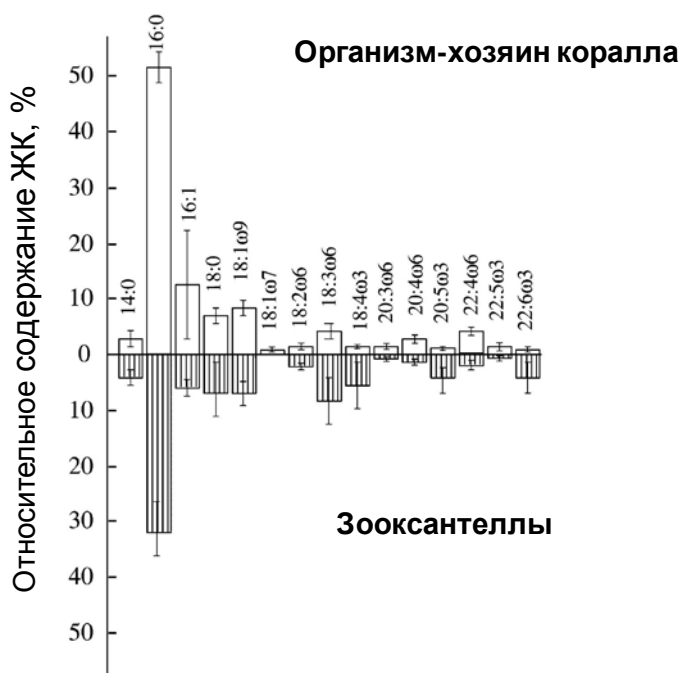


Рисунок 6 – Относительное содержание ЖК в общих липидах чистых фракций зооксантелл и организма-хозяина коралла *Montipora digitata*. Приведены компоненты, содержание которых превышает 0.5% от суммы ЖК [14]

Бишоп и Кенрик [110] показали, что основными ЖК общих липидов зооксантелл, выделенных из 5 видов рифообразующих кораллов (семейства Acroporidae, Faviidae и Pocilloporidae), были кислоты 16:0, 18:3n-6, 18:4n-3, 20:5n-3, 22:6n-3, а также кислота 18:5n-3, характерная для свободноживущих динофлагеллят. В работе [11] исследовали состав ЖК зооксантелл и тканей организма-хозяина рифообразующего коралла *Turbinaria reniformis* (Красное море) при различных режимах освещения и питания. В отличие от тканей полипов, зооксантеллы содержали большее количество 20:5n-3 (8.7-13.4%), 22:6n-3 (10.3-10.8%), 18:4n-3 (7.0-10.1%) и 18:3n-6 (6.5-8.2%). В липидах тканей организма-хозяина отмечен высокий уровень 20:4n-6 (13.5-14.8% от суммы ЖК). Авторы сделали вывод, что часть ПНЖК синтезируется в симбионтах и передаётся организму-хозяину, при этом, возможно, 20:4n-6 синтезируется самим полипом. Схожие данные получены в работе по изучению липидного состава фракций зооксантелл, организма-хозяина и липидных телец симбиосом рифообразующего коралла *Euphyllia glabrescens* [111]. Основными ЖК зооксантелл также были 16:0, 18:0, 18:3n-6, 20:5n-3

и 22:6n-3, при этом в ЖК тканей организма-хозяина отмечено заметное количество кислоты 20:4n-6 ($10.0 \pm 3.3\%$), которая отсутствовала в зооксантеллах (табл. 11). Авторы высказали предположение, что высокая концентрация 20:4n-6 в клетках полипа коралла может быть результатом транспорта 18:3n-6 от симбионтов к организму-хозяину или высокой активности $\Delta 5$ и $\Delta 6$ десатураз в гастродермальных клетках *E. glabrescens*, поэтому 20:4n-6 можно считать маркером организма-хозяина.

Таблица 11 – Состав ЖК (% от суммы) общих липидов фракций организма-хозяина и симбионтов рифообразующего коралла *Euphyllia glabrescens*, а также культивированных зооксантелл [111]

Жирные кислоты	Гастродермальные клетки организма-хозяина	Выделенные клетки <i>Symbiodinium</i>	Культивированные клетки <i>Symbiodinium</i>
14:0	3.1 ± 1.9	10.9 ± 1.2	4.5 ± 1.2
16:0	19.7 ± 1.2	46.7 ± 1.2	16.0 ± 1.4
18:0	18.9 ± 0.5	34.4 ± 2.9	6.1 ± 1.3
20:0	1.2 ± 0.6	–	–
22:0	2.1 ± 0.7	4.1 ± 1.0	–
16:1n-7	–	2.1 ± 0.8	2.5 ± 0.4
20:2n-9	0.6 ± 0.3	1.4 ± 0.2	–
22:1n-9	0.3 ± 0.1	1.2 ± 0.2	–
18:1n-9	1.5 ± 0.1	4.0 ± 0.5	0.3 ± 0.1
18:2n-6	6.0 ± 0.9	4.0 ± 0.5	3.4 ± 0.4
18:3n-6	1.9 ± 0.1	29.7 ± 1.1	0.2 ± 0.1
20:3n-6	1.4 ± 0.2	–	–
20:4n-6	10.0 ± 3.3	–	–
22:4n-6	3.5 ± 0.7	–	–
18:4n-3	0.2 ± 0.1	5.0 ± 0.2	8.0 ± 0.7
20:5n-3	1.3 ± 0.1	16.5 ± 2.2	22.0 ± 1.7
22:6n-3	4.7 ± 1.7	14.8 ± 2.0	4.1 ± 0.9

Липиды тилакоидных мембран фотосинтетического комплекса динофлагеллят содержат специфические галактолипиды: МГДГ, ДГДГ и СХДГ [112, 113]. Внутриклеточные симбиотические динофлагелляты кораллов синтезируют эти же галактолипиды, которые не могут синтезироваться в клетках организма-хозяина. Жирные кислоты МГДГ и ДГДГ, выделенные из липидов зооксантелл рифообразующих кораллов, содержали до 77% 18:4n-3 и 18:5n-3 [110], а также высокий уровень 18:3n-6 и 20:5n-3. Интересно, что в зооксантеллах доля кислоты 18:3n-6, характерной для животных, значительно выше, чем 18:3n-3, типичной для липидов высших растений. Профиль ЖК зооксантелл, выделенных из различных групп морских

беспозвоночных (книдарии, моллюски, фораминиферы), зависел от клада этих симбионтов [110].

Основными молекулярными видами галактолипидов некоторых видов свободноживущих динофлагеллят являются МГДГ (18:3/16:4, 18:5/18:5 и 18:5/18:4) и ДГДГ 18:5/18:4. [112, 114]. Имбс и др. [101] определили профиль молекулярных видов галактолипидов зооксантелл из альционии *Capnella* sp. (табл. 12). Основными молекулярными видами ДГДГ были 18:4/20:5, 18:4/18:4 и 16:2/22:6. Молекулы ДГДГ включали 16:2n-7, 16:3n-4 и 18:4n-3, которые предложены в качестве маркерных ПНЖК зооксантелл мягких кораллов, а также 20:5n-3 и 22:6n-3, которые являются характерными ПНЖК динофлагеллят. В составе МГДГ из зооксантелл *Capnella* sp. обнаружено тринадцать молекулярных видов (табл. 12). Основными молекулярными видами были МГДГ 34:7 (16:2/18:5 + 16:3/18:4), 36:10 (16:4/20:5 + 18:4/18:5) и 36:9 (18:4/18:4 + 16:3/20:5). Эти молекулярные виды, а также присутствующий в небольшом количестве МГДГ 16:4/18:5, содержали 16:4n-1 и 18:5n-3, которые являются уникальными маркерами зооксантелл. Молекулярные виды МГДГ и ДГДГ зооксантелл из *Capnella* sp. характеризовались очень высокой степенью ненасыщенности: ПНЖК замещали оба положения (*sn*-1 и *sn*-2) в остатке глицерина (табл. 12). МГДГ и ДГДГ свободноживущих автотрофных динофлагеллят также характеризовались высокой степенью ненасыщенности. Основными молекулярными видами, которые были выделены из *Lingulodinium polyedrum* [115], были МГДГ 20:5/18:5 и ДГДГ 20:5/18:4. Кроме того, МГДГ 18:4/20:5, ДГДГ 18:4/18:4 и ДГДГ 18:4/18:5 были выделены из пресноводных динофлагеллят *Glenodinium sanguineum* [116], а у динофлагеллят *Borghiella dodgei* были найдены МГДГ 18:4/18:5 и 18:4/18:4 [112, 114]. Ранее динофлагелляты были разделены на две группы в зависимости от состава молекулярных видов МГДГ и ДГДГ [117]. Галактолипиды микроводорослей первой группы содержали в основном C₁₈ ПНЖК, тогда как в галактолипидах второй группы присутствовали C₂₀ и C₁₈ ПНЖК. В соответствии с составом галактолипидов зооксантеллы из *Capnella* sp. были ближе к динофлагеллятам второй группы. Следует отметить, что высокая степень ненасыщенности не является обязательным признаком галактолипидов всех автотрофных организмов. [118]. Таким образом, полиненасыщенные молекулярные виды МГДГ и ДГДГ могут быть маркерами зооксантелл у симбиотических видов кораллов.

Таблица 12 – Профиль молекулярных видов гликолипидов зооксантелл из мягкого коралла *Capnella* sp. (% от суммы МГДГ или ДГДГ) [101]

ДГДГ		МГДГ	
Молекулярный вид	Содержание, %	Молекулярный вид	Содержание, %
16:2/16:2	2.38	16:2/16:4,16:3/16:3	3.1
16:0/16:3	3.27	16:2/16:3,16:1/16:4	3.82
16:0/16:2	5.54	16:2/16:2,16:1/16:3,16:	5.18

Продолжение таблицы 12

16:3/18:4	6.43	16:0/16:3,16:1/16:2	5.54
16:2/18:4	2.75	16:0/16:2,16:1/16:1	8.95
18:4/18:4	19.13	16:4/18:5	1.15
16:3/20:5	3.82	16:3/18:5,16:4/18:4	7.56
18:4/20:5	32.83	16:2/18:5,16:3/18:4	14.73
16:2/22:6	10.38	16:1/18:5,16:2/18:4	6.2
18:4/22:6	2.53	16:4/20:5,18:4/18:5	14.79
Другие	10.94	16:3/20:5,18:4/18:4	16.54
		16:4/22:6,18:5/20:5	5.18
		16:3/22:6, 18:4/20:5	7.26

Сульфохиновозилдиацилглицерол (СХДГ) или 1,2-ди-*O*-ацил-3-*O*-(6'-диокси-6'-сульфо- α -*D*-глюкопиранозил)-*sn*-глицерол – типичный липид растений, входит в состав фотосистемы PSII и цитохрома *b6f*-комплекса. В отличие от нейтральных галактолипидов, СХДГ является анионным липидом и имеет отрицательно заряженную полярную «голову», так же как и фосфолипиды, недостаток которых СХДГ может частично компенсировать [119]. В состав молекул этих липидов симбиотических динофлагеллят входят остатки насыщенных и моноеновых ЖК [120], подобно тому, как молекулы СХДГ зооксантелл из морской актинии *Aiptasia pallida* содержат предельные ЖК с четным числом атомов углерода от 12 до 18 и моноеновые ЖК от 14:1 до 18:1 [75].

В работах Титлянова и Жуковой [121, 122] были исследованы профили ЖК полярных липидов и ТГ различных типов зооксантелл (L, B и G), выделенных из голобионтов рифа о. Сесоко (Окинава, Япония). В гидрокоралле *Millepora intricata* были обнаружены симбионты типа L, в рифообразующих кораллах *Pocillopora damicornis* – типа B, *Seriatopora caliendrum* и *S. hystrix* – типа G, *Stylophora pistillata* – типов B и G. Типы симбионтов различались по составу ЖК, а также размерами и формой клеток, фотосинтетическими способностями, скоростью деления и деградации клеток. Основными ЖК полярных липидов зооксантелл типа L, выделенных из *M. intricata*, были 18:4n-3 (26.2%), 22:6n-3 (17.8%), 16:0 (12.8%), 22:5n-6 (10.3%) и 18:5n-3 (8.7%); содержание 20:5n-3 (0.5%) и 20:4n-6 (0.1%) было следовым (табл. 13). Полярные липиды зооксантелл типа B (организм-хозяин *P. damicornis*) и типа G (*S. caliendrum* и *S. hystrix*) имели сходные профили ЖК. Основными кислотами были 16:0, 18:4n-3, 20:4n-6, 20:5n-3 и 22:6n-3. Доля 18:5n-3 в ЖК полярных липидов зооксантелл типов B и G была всего 1.3 и 0.6% от суммы ЖК, соответственно, но при этом содержание ПНЖК 18:3n-6 и 20:4n-6 по сравнению с ПЛ зооксантелл клада L было большим. Основными ЖК триглицеридов зооксантелл типов L, B и G были 16:0 и 22:6n-3 (табл. 13) [121, 122]. ТГ зооксантелл типа L содержали минимальное количество 16:0, но максимальное – 22:6n-3 и 18:0. Максимальное

содержание 16:1n-7 найдено в ТГ зооксантелл типа G, а в ТГ зооксантелл типа L эта кислота была минорным компонентом [122].

Таблица 13 – Состав ЖК (% от суммы) триглицеридов из зооксантелл рифообразующих кораллов и гидрокораллов [122]

Жирная кислота	Вид коралла и тип зооксантелл				
	<i>Millepora intricata</i>	<i>Pocillopora damicornis</i>	<i>Seriatopora caliendrum</i>	<i>Seriatopora hystrix</i>	<i>Stylophora pistillata</i>
	Тип L	Тип B	Тип G	Тип G	Типы B и G
12:0	0.2	0.2	0.8	0.2	0.6
14:0	2.9	4.6	8.2	8.0	5.1
16:0	26	42.3	31.4	32.0	37.2
16:1n-7	1.0	5.8	11.9	12.3	6.2
17:0	0.4	–	0.5	0.2	0.2
18:0	20.9	5.0	4.8	4.4	4.3
18:1n-9	4.2	8.9	8.7	6.1	14.1
18:1n-7	0.4	1.1	1.3	1.3	2.0
18:2n-6	1.2	2.1	3.1	2.0	0.9
18:3n-6	1.8	2.5	0.5	0.3	1.1
18:3n-3	–	0.2	1.0	0.2	0.2
18:4n-3	–	0.2	–	–	0.1
18:5n-3	0.1	–	–	0.3	–
20:1	–	–	–	0.3	–
20:2n-6	0.3	0.1	–	0.6	–
20:3n-6	–	0.1	0.5	–	–
20:4n-6	–	0.4	1.3	0.6	0.5
20:5n-3	–	2.5	4.0	4.5	3.4
22:0	–	0.1	–	0.1	–
22:4n-6	1.0	0.5	0.5	0.4	0.4
22:5n-3	–	0.7	0.5	1.0	1.4
22:6n-3	39.2	21.8	19.3	23.3	21.2

Общие липиды зооксантелл из альционии *Sinularia* sp. содержали примерно такое же количество ТГ ($7.4 \pm 2.2\%$), что и ткани полипа ($10.7 \pm 0.5\%$), и коралл в целом ($7.3 \pm 2.1\%$) [123]. Доля МАДАГ в липидах зооксантелл этой синулярии была гораздо меньше ($0.8 \pm 0.4\%$), чем в полипе ($35.0 \pm 2.3\%$) или в целом коралле ($18.4 \pm 1.1\%$). Поскольку симбиотические книдарии содержат существенное количество МАДАГ [3, 81, 83], а его зооксантеллы – лишь следы этого класса липидов, то можно предположить, что МАДАГ синтезируются организмом-хозяином и являются его маркерами [83].

Поскольку в липидах зооксантелл обнаружено только незначительное количество восков, предполагается, что биосинтез восков происходит в тканях организма-хозяина [90, 108, 124]. В

зооксантеллах (клад С) рифообразующего коралла *Euphyllia glabrescens* воски не были обнаружены [90]. Доля восков в общих липидах зооксантелл, выделенных из актинии *A. viridis*, была всего 0.33%, что гораздо меньше, чем в тканях организма-хозяина (2.29%) [124]. В то же время, в липидах зооксантелл, выделенных из *Sinularia* sp., воски составили $13.9 \pm 1.6\%$, в самом полипе коралла – $31.7 \pm 0.9\%$, а в коралле целиком – $19.8 \pm 3.3\%$ от суммы липидов [123].

Бетаиновые липиды – это группа структурных полярных липидов, которые замещают ФЛ у низших растений [125]. Они представляют собой метилированные или карбоксилированные производные гидроксиаминокислот, связанные с диацилглицерином в положении *sn*-3. Эти биомолекулы найдены в макроводорослях [4], в динофлагеллятах и других микроводорослях [125, 126], в том числе и в зооксантеллах, выделенных из медузы *Cassiopea xamachana* [127]. В микроводорослях присутствуют три основных класса бетаиновых липидов: диацилглицерил-*N*-триметилгомосерин (ДГТС), диацилглицерилгидроксиметил-*N,N,N*-триметил-бета-аланин (ДГТА) и диацилглицерилкарбоксигидроксиметилхолин (ДГКХ) [125].

У симбиотических динофлагеллят *Durusdinium trenchii* и *Cladocodium* C3 из рифообразующего коралла *Acropora valida* среди бетаиновых липидов был идентифицирован только ДГКХ и лизо-ДГКХ. У обоих симбионтов молекулярные виды ДГКХ характеризовались содержанием длинноцепочечных ЖК с высокой степенью ненасыщенности. У *D. trenchii* основными молекулярными видами ДГКХ были 38:6 ($43.3 \pm 9.6\%$), 44:12 ($29.2 \pm 6.5\%$) и 42:11 ($11.5 \pm 3.0\%$), а у *Cladocodium* – 38:6 ($52.3 \pm 2.5\%$), 36:5 ($23.0 \pm 2.4\%$) и 44:12 ($11.09 \pm 3.9\%$) [120].

1.4 Изменения состава липидов кораллов под влиянием неблагоприятных условий окружающей среды

Еще в самых ранних работах по обесцвечиванию кораллов [128, 129] акцент был сделан именно на липидах, поскольку они, несомненно, играют важную роль в этом процессе. Неблагоприятные условия внешней среды или заболевания оказывают существенное влияние на содержание общих липидов в кораллах. В работе по изучению влияния обесцвечивания в естественной среде обитания на уровень липидов рифообразующего коралла *Pocillopora damicornis* и его облигатных симбионтов (крабы *Trapezia coralliina* и *T. ferruginea*) было замечено двукратное снижение уровня липидов в обесцвеченных колониях коралла относительно здоровых колоний (с 0.59 до 0.28% от сухого веса) [128]. Обесцвечивание коралловых рифов на о. Сесоко (Япония) привело к заметному понижению количества липидов в рифообразующих кораллах с 26.5 ± 2.3 до $9.0 \pm 1.5\%$ от мокрого веса колонии [130]. Восстановление исходного уровня липидов зависело от морфологии колоний. Неблагоприятные условия обитания, при которых происходит обесцвечивание, резко увеличивают затраты

энергии организма-хозяина, которые компенсируются за счет окисления резервных липидов, поэтому в работе [130] отмечалось резкое снижение содержаний восков и ТГ во всех исследуемых видах рифообразующих кораллов в условиях стресса.

Частично обесцвеченные колонии кораллов погибают не сразу, они могут использовать энергию, получаемую с пищей. В работе [131] было изучено совместное влияние повышенной температуры и уровня гетеротрофного питания на состав липидов и ЖК рифообразующего коралла *Turbinaria reniformis*. Оказалось, что содержание липидов и ЖК снижалось медленнее при достаточном уровне гетеротрофного питания. Было показано, что при обесцвечивании кораллов *Pavona frondifera*, *Acropora pulchra*, и *Goniastrea aspera* (о. Окинава) биомасса бактериального сообщества растет, о чем говорит повышение уровня ЖК маркеров бактерий (15:0, 16:1n-7, 17:0 и 18:1n-7) в обесцвеченных колониях кораллов (здоровые колонии – $3.78 \pm 0.15\%$, обесцвеченные колонии – $9.75 \pm 3.67\%$ от суммы липидов для *P. frondifera*) [132].

Колонии кораллов способны, хоть и медленно, восстанавливать повреждения, полученные при частичном обесцвечивании. Используя комбинированный эксперимент в искусственных и естественных условиях два года подряд три вида кораллов Карибского моря (*Porites divaricata*, *Porites astreoides* и *Orbicella faveolata*) подвергали кратковременному тепловому стрессу, затем возвращали в естественную среду обитания и исследовали динамику изменения различных показателей (уровень хлорофилла, энергетические запасы, кальцификация и т.д.) [133]. Через 1.5 месяца после теплового стресса у *P. divaricata* количество липидов достоверно снижалось (относительно контроля), а затем через год после стресса полностью приходило в норму. Количество липидов *O. faveolata* достоверно снижалось относительно контрольных колоний сразу после теплового воздействия и уже через 1,5 месяца вернулось в норму. Было показано, что колонии *P. divaricata* и *O. faveolata* в течение года смогли полностью восстановиться после повторного обесцвечивания, а колонии *P. astreoides* не смогли восстановить уровень белков и углеводов до первоначального значения. Авторы предполагают, что виды кораллов, которые не способны восстанавливать свои энергетические запасы в течение года, больше всего подвержены риску исчезновения из живой природы [133].

Основной причиной обесцвечивания является повышенная температура, которая действует синергически с повышенным уровнем солнечной радиации. Так, в работе по изучению влияния различной интенсивности света и температуры на ЖК профиль организма-хозяина и симбионтов коралла *Montipora digitata* было отмечено, что снижение доли ПНЖК наблюдается в ответ на повышение интенсивности света только лишь в сочетании с повышенной температурой [134]. Большинство изменений были замечены в самом полипе *M. digitata*, что свидетельствует о том, что либо сам организм-хозяин более восприимчив к

изменениям окружающей среды, чем его симбионты, либо хозяин защищает симбионтов от воздействия неблагоприятных факторов [134].

Степень и характер нарушений, происходящих в симбиотическом организме коралла в ответ на тепловой стресс, зависит от таксономической принадлежности коралла. В работе [12] найдено, что склерактиния *Acropora intermedia* является более восприимчивым к экспериментальному тепловому стрессу, чем альционария *Sinularia capitalis* и склерактиния *Montipora digitata*. В данной работе была изучена динамика изменений содержания различных классов липидов и ЖК профилей различных таксономических групп кораллов при тепловом воздействии. Во всех исследуемых образцах существенно снижалось содержание общих липидов (на 17% для *S. capitalis* и 35% для *A. intermedia* после 24-х часов инкубирования, на 40% для *M. digitata* после 30-ти часов инкубирования); наблюдались изменения в содержании различных классов липидов. Липидные профили кораллов *S. capitalis* после 24-х часов инкубации и *M. digitata* после 30-ти часов инкубации были схожи, за исключением ТГ, количество которых в *M. digitata* уменьшилась на 67% относительно контрольных значений. В *A. intermedia* количества ФЛ и СТ уменьшилось в два раза после 10-ти часов тепловой обработки, в то время как количество восков увеличилось на 40% относительно контроля, а затем снова снизилось (рис. 7). Профиль ЖК оставался неизменным в течение 24-х часов эксперимента, но к концу эксперимента (48 часов для *S. capitalis* и *M. digitata* и 30 часов для *A. intermedia*) все виды кораллов продемонстрировали снижение количества ПНЖК на 80–90%; меньшее снижение было отмечено для предельных (60%) и моноеновых ЖК (60%).

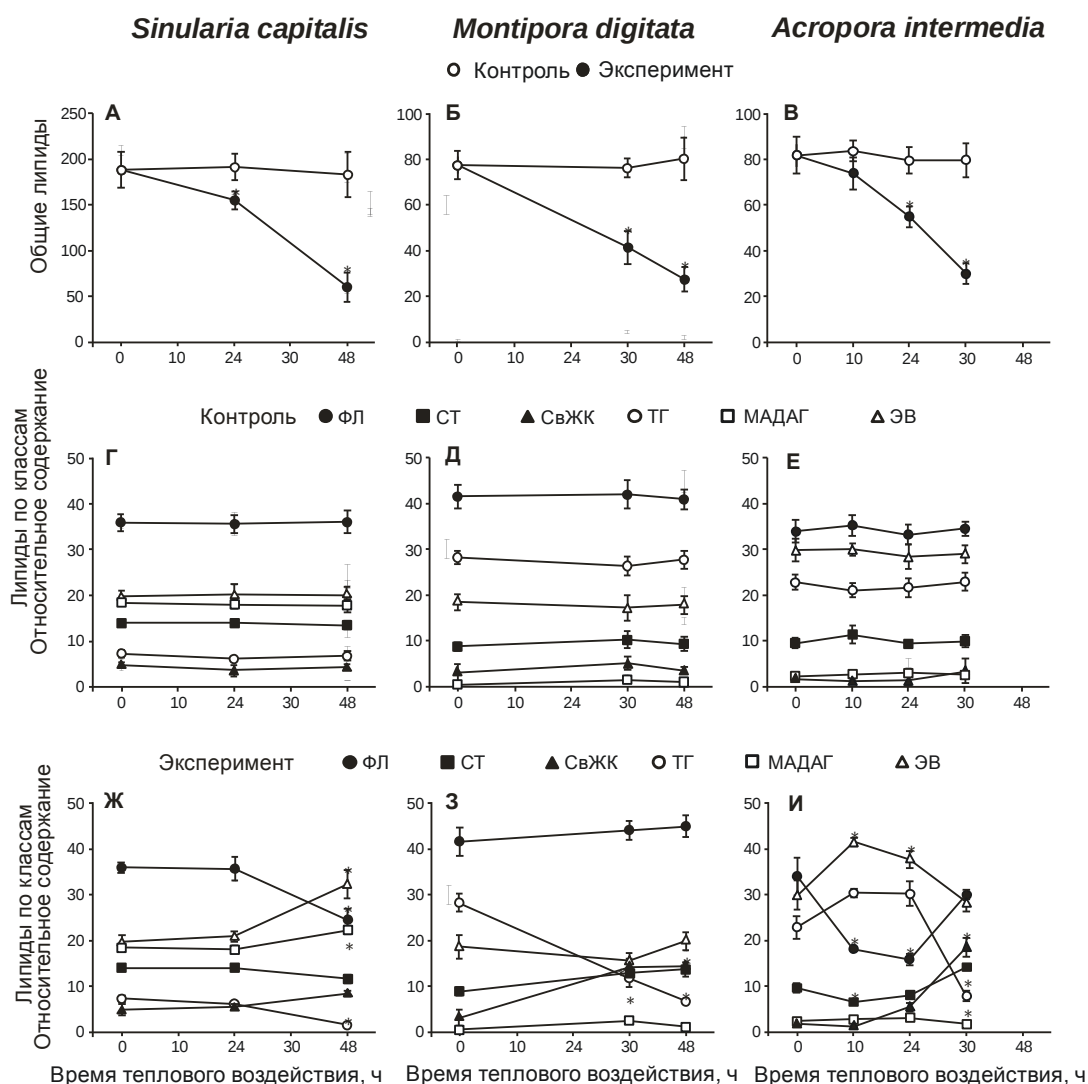


Рисунок 7 – Динамика изменения количества липидов (мг/г влажного веса образца) контрольных колоний (25°C, белые символы) и колоний, подверженных тепловому стрессу (33°C, черные символы) кораллов *Sinularia capitalis* (А), *Montipora digitata* (Б) и *Acropora intermedia* (В) в течении 48-ми часов эксперимента. Динамика изменений относительных пропорций отдельных классов липидов (% от суммы липидов) экстрагированных из контрольных (25°C, Г, Д, Е) и экспериментальных (33°C, Ж, З, И) колоний кораллов *S. capitalis*, *M. digitata* и *A. intermedia*, соответственно, в течении 48-ми часов эксперимента [12]. Все значения приведены как среднее со стандартным отклонением, $n = 2-4$. Звездочкой обозначены значения, достоверно отличающиеся от контроля ($p < 0.05$)

Известно, что процесс обесцвечивания запускается в клетках симбионтов, что отражается на липидном профиле зооксантелл кораллов. Определенные клады зооксантелл более устойчивы к повышенным температурам. В работе [26] было проведено сравнительное исследование состава липидов тилакоидных мембран культивированных зооксантелл из различных видов рифообразующих кораллов. Было показано, что отношение 18:1n-9/18:4n-3 значительно выше в тех культурах симбионтов, которые более устойчивы к повышению температуры окружающей среды. Авторы предполагают, что большое количество ПНЖК в составе липидов тилакоидных мембран зооксантелл при действии повышенной температуры приводит к их окислению и к повышению проницаемости мембран, что нарушает работу

фотосинтетического аппарата и, в конечном итоге, ведет к потере зооксантелл и гибели колонии коралла [26].

В более поздних работах [135] и [136] также было показано, что различные типы зооксантелл по-разному реагируют на температурный стресс, что отражается на профиле их липидного состава. В работе [136] было проведено сравнительное исследование состава липидов и ЖК культур зооксантелл *Symbiodinium goreauii* тип C1 и *Symbiodinium* sp. подтип D1 при различных температурах. Длительное воздействие повышенной температуры вело к уменьшению относительного количества C₁₈ ПНЖК в липидах зооксантелл обоих типов, но видимый тепловой порог изменений липидов был ниже для типа C1.

В работе [135] было изучено изменение профиля ЖК липидов симбиотических динофлагеллят различных филогенетических типов (*Symbiodinium kawagutii* (тип F1), *S. pilosum* (тип A2), *S. microadriaticum* (тип A1), *Symbiodinium* sp. (тип B1) и *Symbiodinium* sp. (тип C1)), выделенных из тканей различных видов кораллов и культивированных при нормальной (24°C) и повышенной (32°C) температурах. Для изучения способов акклиматизации, были исследованы изменения ЖК двух типах термочувствительных динофлагеллят C1 и A1. Симбионты по-разному реагировали на повышение температуры. Для *Symbiodinium* sp. C1 высокая температура не приводила к значительному изменению состава ЖК, а у *S. microadriaticum* A1 наблюдались значительные изменения состава ЖК. Увеличилось содержание 18:1 и 18:3, при этом уменьшился относительный процент 16:0, 18:1, 18:4 и 22:6. В ЖК зооксантелл, культивированных при 32°C, содержание 18:3 увеличилось в пять раз по сравнению с ЖК зооксантелл, культивированных при 24°C, а 18:1n-9 – удвоилось. Для фракции фотосинтетических мембран относительная пропорция 18:1n-9 также удвоилась, процентное содержание 22:6 сократилось в два раза и снизилась доля 16:0. Отношение насыщенных и ненасыщенных ЖК липидов фотосинтетических мембран *Symbiodinium* sp. C1 составило 1.17 при 24°C, увеличилось до 1.23 при 32°C, тогда как для *S. microadriaticum* A1 это отношение заметно снизилось с 1.55 при 24°C до 1.28 при 32°C. Изменение длины углеродной цепи ЖК также сыграло роль в изменении состава мембран *S. microadriaticum* A1, культивируемых при высокой температуре. В ответ на повышение температуры содержание C₁₈ ЖК увеличивалось как в общих липидах, так и в липидах фотосинтетических мембран, при этом уменьшались количества C₁₆ и C₂₂ ЖК. Интересно, что профиль ЖК *Symbiodinium* sp. C1 имел другую картину: увеличилось содержание C₂₂ ЖК в целых клетках, выращенных при высокой температуре. Так как культура *Symbiodinium* sp. C1 росла гораздо лучше при более высокой температуре культивирования, было сделано предположение, что изменение длины ЖК для *S. microadriaticum* A1 не отражает физиологическую адаптацию к акклиматизации, но, скорее всего, отражает степень повреждений. У каждого типа зооксантелл, по-видимому, разные

механизмы акклиматизации: *Symbiodinium* sp. C1 был способен расти при 32°C без значительных изменений в составе ЖК клеточных мембран, хотя температура плавления мембран клеток культур, выращенных при 32°C, была на 3.5°C выше. Анализируя состав мембран и изменения, вызванные реакцией акклиматизации, авторы предположили, что мембраны *S. microadriaticum* A1 имеют более высокую текучесть при 24°C, с более высокой долей ПНЖК. После повышения температуры культивации в липидах *S. microadriaticum* A1 изменился состав ЖК, но этих изменений оказалось недостаточно для обеспечения устойчивого роста культуры при 32°C. В итоге, авторами был сделан вывод о том, что степень ненасыщенности ЖК тилакоидных мембран зооксантелл на прямую не влияет на обесцвечивание и не может быть использована, как надежный инструмент для диагностики термочувствительности симбиотических кораллов [135].

В работе [120] были изучены происходящие под действием повышенной температуры изменения структурных липидов (БЛ, ФЛ и ГЛ) двух видов зооксантелл: более термически устойчивого *Durusdinium trenchii* и более термически восприимчивого вида *Cladocopium* C3; выделенных из рифообразующего коралла *Acropora valida*. Результаты исследования показали, для того чтобы справиться с повышенной температурой симбиотические динофлагелляты могут применять несколько стратегий, включающих изменения липидного строения их мембран.

По сравнению с *Cladocopium*, *D. trenchii* характеризовался более высоким уровнем лизо-ДГКХ. Накопление лизо-липидов может представлять собой отдельный механизм, участвующий в устойчивости к тепловому стрессу *D. trenchii* [120]. Так же было показано, что увеличивается насыщенность липидов МГДГ, ДГДГ, СХДГ, ФХ, ЛФХ у термочувствительного клада зооксантелл *Cladocopium* C3, что является ответной реакцией клеток фотосинтезирующих организмов для снижения текучести биологических мембран при высоких температурах. У *D. trenchii* таких изменений не было замечено, видимо, подобный стресс для них не является критичным. МГДГ, ДГКХ, лизо-ДГКХ и ЛФХ у *D. trenchii* имели более высокую степень ненасыщенности по сравнению с *Cladocopium* C3, независимо от температуры эксперимента, а ФХ, ФГ и СХДГ были значительно более насыщенными. Под действием температуры наблюдалось увеличение степени насыщенности СХДГ и ЛФХ у *D. trenchii*. Эти результаты позволяют предположить, что термоустойчивость *D. trenchii* не связана со степенью ненасыщенности общих липидов, как упоминалось ранее [26], а центральную роль в ответ на температурный стресс занимает СХДГ и степень насыщенности этого класса липидов, поскольку индекс ненасыщенности снижается у *D. trenchii* при увеличении температуры окружающей среды, и разница с *Cladocopium* C3 еще больше увеличивается при температурном стрессе [120]. Интересно, что соотношение ДГДГ/МГДГ у *D. trenchii* по сравнению с *Cladocopium* было больше. Соотношение ДГДГ/МГДГ в мембране имеет решающее значение

для правильного физиологического функционирования, поскольку именно ДГДГ являются бислойобразующим липидом [137]. Повышенная термостойкость *D. trenchii* может быть напрямую связана с более высокими отношением ДГДГ/МГДГ. Напротив, восприимчивость *Cladocodium* C3 может быть связана с более низкими отношением ДГДГ/МГДГ в сочетании с неспособностью изменять профиль галактолипидов хлоропластов в ответ на повышение температуры [120].

2. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

2.1 Липидомы кораллов

2.1.1 Мягкий коралл *Sinularia siaesensis* (Anthozoa: Octocorallia: Alcyonacea: Alcyoniidae)

Классический метод экстракции [138] позволил получить общие липиды с выходом 4.85% от массы сухой ткани альционии *S. siaesensis*. Общие липиды коралла содержали 18.25% восков, 5.83% ТГ, 7.79% МАДАГ, 2.14% ФЭ, 2.53% ФХ, 1.50% ФС, 0.32% ФИ, 0.71% ЦАЭФ, 0.29% МГДГ, 0.18% ДГДГ и 0.82% СХДГ. Общий профиль липидов, в котором доминируют неполярные липиды (воски, ТГ и МАДАГ), а среди фосфолипидов преобладают ФЭ и ФХ, характерен для тропических видов альционий [8, 139]. Кроме 10-ти основных классов ацильных липидов, в экстракте присутствовали другие липофильные вещества, в частности, углеводороды, стеринны, свободные ЖК и пигменты. Ранее было показано, что в составе углеводородов тропической синулярии преобладает 2-изопропенил-4а,8-диметил-1,2,3,4,4а,5,6,7-октагидронафталин [96], а среди стериннов – 24-метиленхолестерол и кампестерол [3]. Свободные ЖК не следует применять для характеристики общих липидов, поскольку составы свободных ЖК [140] и ЖК ацильных липидов [8] мягких кораллов резко различаются. Общие липиды *S. siaesensis* имели высокое содержание ЛФХ (1.35%), что согласуется с данными работы [141]. Неспецифический гидролиз липидов при экстракции не может быть причиной высокого уровня ЛФХ в тканях *S. siaesensis*, поскольку лизо-формы других классов фосфолипидов практически отсутствовали.

Воски и ТГ рассматриваются, как главный энергетический резерв кораллов, однако в качестве индикатора расхода и накопления энергии колониями коралла широко используется количество суммарного липидного экстракта [16, 140]. Ацильные липиды составили менее половины (41.89%) от суммарного липидного экстракта *S. siaesensis*, поэтому, по нашему мнению, содержание индивидуальных классов липидов должно давать более точную картину энергетического баланса альционий, чем количество суммарного липидного экстракта, который в литературе принято именовать, как «общие липиды» (total lipids).

Неполярный липидом

В нейтральных липидах (неполярном липидоме) альционии *S. siaesensis* присутствовали воски, ТГ и МАДАГ; эфиров стериннов не обнаружили. Анализ фракции восков проводили газовой хромато-масс-спектрометрией с ионизацией методом электронного удара (EI). Сумму ТГ и МАДАГ разделяли сверхкритической флюидной хроматографией и анализировали методом масс-спектрометрии низкого разрешения в режиме химической ионизации при

атмосферном давлении (APCI). Две последовательно соединенные хроматографические колонки позволили достичь разделения практически всех молекулярных видов ТГ и МАДАГ за 85 мин анализа.

В масс-спектрах восков (общая формула $R'OCOR$, где R' и R – алкильные группы алифатического спирта и ЖК, соответственно) присутствовали пики молекулярных ионов M^+ . Относительная интенсивность сигналов молекулярных ионов (относительно базового иона m/z 57, 100%) была значительно выше в спектрах насыщенных восков (10–13%), чем в спектрах ненасыщенных восков (1–2%) (рис. 8, А). Характеристическими ионами для насыщенных восков были $[RCOOH]^+$ (50–70%) и $[R'-H]^+$ (7–14%), а для ненасыщенных восков – $[RCO]^+$ (30–40%), $[RCOOH]^+$ (6–10%) и $[R'-H]^+$ (3–10%). Масс-спектры интерпретировали согласно работе [142]. Характеристические ионы позволили обнаружить присутствие пар изомеров, например, 16:1/16:0+16:0/16:1 и 18:0/15:0+17:0/16:0, которые не разделялись в условиях хроматографического анализа.

В режиме APCI молекулы ТГ образуют молекулярные ионы в протонированной форме $[M+H]^+$. В этих условиях наиболее вероятен отрыв ацильной группы в виде нейтральной молекулы $RCOOH$ из положения *sn*-1 или *sn*-3 [143, Holcapek, #598], что приводит к появлению в масс-спектре наиболее интенсивных сигналов соответствующих фрагмент-ионов (рис. 8, Б). Спектр также содержит менее интенсивный сигнал иона $[M-R'COOH]^+$, образующийся в результате отрыва остатка ЖК в положении *sn*-2. В масс-спектре молекулярного вида ТГ с тремя одинаковыми остатками ЖК присутствует сигнал только одного иона $[M-RCOOH]^+$. Таким образом, метод позволяет определить брутто-формулу (количество атомов углерода и число двойных связей) всех трех ацильных групп в молекуле ТГ, а также заместитель в положении *sn*-2 остатка глицерина.

Масс-спектр каждого молекулярного вида МАДАГ также содержал сигнал иона $[M+H]^+$. Согласно работам [74], в масс-спектре МАДАГ с тремя различными алифатическими цепями наиболее интенсивный сигнал (100%) дает ион $[M-R'COO]^+$, образованный при отрыве остатка ЖК в положении *sn*-2, отрыв остатка ЖК в положении *sn*-3 дает менее интенсивный сигнал иона $[M-R''COO]^+$ (>50%), а наименьшую интенсивность (>10%) имеет сигнал фрагмента $[M-OR''']^+$ при отрыве остатка спирта в положении *sn*-1 (рис. 8, В). Использование этих закономерностей позволило установить брутто-формулы и положение всех заместителей в молекулах МАДАГ.

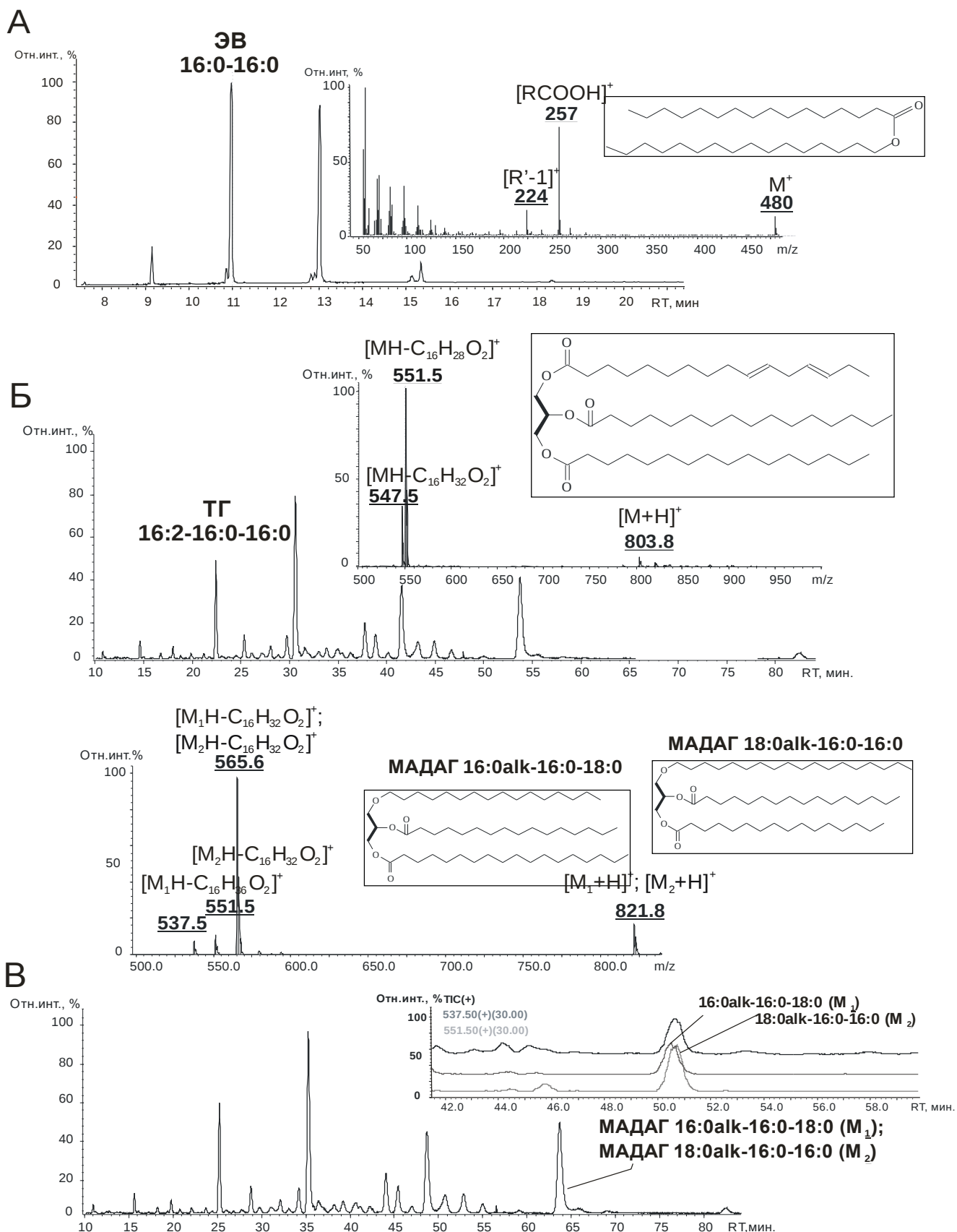


Рисунок 8 – Хромато-масс-спектрометрический анализ молекулярных видов неполярного липидома мягкого коралла *Sinularia siaesensis*: (А) хроматограмма восков (ГЖХ) и масс-спектр (EI) цетилпальмитата (16:0/16:0); (Б) хроматограмма триглицеридов и моноалкилдиацилглицеролов (сверхкритическая флюидная хроматография, светорассеивающий детектор), масс-спектры (APCI) триацилглицерола 16:2/16:0/16:0 и (В) смеси изомерных моноалкилдиацилглицеролов 16:0alk/16:0/18:0 и 18:0alk/16:0/16:0.

Объединение данных хроматографических и масс-спектрометрических методов позволило впервые расшифровать неполярный липидом *S. siaesensis* (прил. 1, табл. 1). Главными компонентами неполярного липида этой альционии были (в процентах от экстракта): цетилпальмитат (16:0/16:0), цетилстеарат (16:0/18:0) и стеарилпальмитат (18:0/16:0) (в сумме 14.07%); гексадекадиеноилдипальмитоилглицерин (16:2/16:0/16:0) и трипальмитин (16:0/16:0/16:0) (в сумме 3.51%); 1-*O*-октадецил-2,3-дипальмитоил-*sn*-глицерин (18:0alk/16:0/16:0), 1-*O*-гексадецил-2-пальмитоил-3-стеароил-*sn*-глицерин (16:0alk/16:0/18:0) и 1-*O*-гексадецил-2,3-дипальмитоил-*sn*-глицерин (16:0alk/16:0/16:0) (в сумме 3.87%) (прил. 1, табл. 1).

Ранее в мягком коралле *Sinularia microclavate* был обнаружен стеарилпальмитат [144], насыщенные ЭВ 16:0/16:0 и 16:0/18:0 были указаны как главные компоненты восков в гидрокораллах рода *Millepora* [145] и твердых кораллах [83, 146, 147]. В исследованной нами альционии доминировали насыщенные молекулярные виды, а ненасыщенные составили не более 6.8% от суммы восков; аналогичное распределение было найдено нами в двух других видах симбиотических альционий. В отличие от восков альционий, воски симбиотических твердых кораллов содержали до 47% ненасыщенных молекулярных видов (см разд. 3.1.5). Доминирование насыщенных молекулярных видов восков является видоспецифическим признаком тропических альционий. Воски симбиотических видов кораллов не содержат маркерных ПНЖК зооксантелл, таких как 18:3n-6, 18:4n-3 и 18:5n-3 (прил.1, табл. 1), что подтверждается работой [90].

Поскольку ранее было показано, что большую часть ацильных групп ТГ и МАДАГ из тропической альционии *Sinularia* sp. составляют остатки насыщенных ЖК 16:0 и 18:0 [96], доминирование насыщенных молекулярных видов среди ТГ и МАДАГ из *S. siaesensis* не было неожиданностью (прил.1, табл. 1). Однако наибольший интерес вызвали ненасыщенные молекулярные виды этих липидных классов. Остатки ПНЖК преимущественно находились в молекулах ТГ в положениях *sn*-1(3), а в молекулах МАДАГ – в положении *sn*-2. Это может быть результатом разницы в путях биосинтеза ацильных (ТГ) и этерных (МАДАГ) глицеролипидов. Из фосфатидной кислоты образуется 1,2-диацилглицерин, ацилирование которого по положению *sn*-3 дает молекулу ТГ [148]. МАДАГ образуется путем последовательного введения двух остатков ЖК в положения *sn*-2 и *sn*-3 молекулы 1-*O*-алкилглицерина [149].

Метод маркерных ЖК неоднократно использовался для отдельной характеристики липидов симбионтов и организма-хозяина, а также передачи ЖК между членами симбиотического сообщества коралла [150]. Такие ПНЖК, как 20:4n-6, 22:5n-3 и 22:6n-3, характерны для тканей животных, и присутствие молекулярных видов ТГ и МАДАГ,

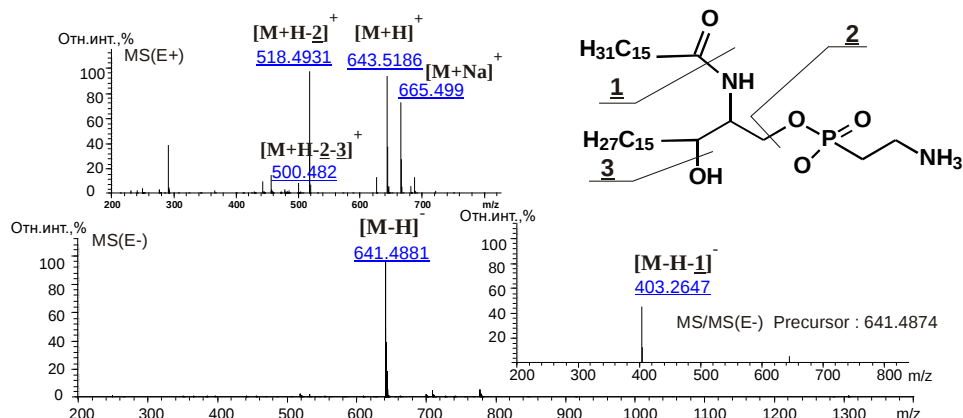
содержащих остатки этих ПНЖК, закономерно для книдарий (прил.1, табл. 1). Независимо от наличия симбионтов, все виды октокораллов синтезируют ТПЖК (24:5n-6 и 24:6n-3) [8, 94], поэтому МАДАГ 18:0alk/24:5/16:0 (прил.1, табл. 1) однозначно является маркером тканей организма-хозяина. Маркерными ПНЖК зооксантелл являются 16:4n-1, 18:3n-6 и 18:4n-3 [11, 151], следовательно, ТГ с остатками этих ПНЖК (прил.1, табл. 1) могут синтезировать симбионты кораллов. В то же время известно, что зооксантеллы не синтезируют этерные липиды, поэтому обнаружение в липидах мягкого коралла ряда молекулярных видов МАДАГ с остатками маркерных ПНЖК зооксантелл (18:0alk/18:3/16:0, 18:0alk/18:4/16:0 и 16:0alk/18:3/16:0) (прил.1, табл. 1) следует рассматривать, как подтверждение передачи ПНЖК от симбионтов к хозяину. Предполагается, что зооксантеллы мягких кораллов также участвуют в синтезе кислоты 16:2n-7 [151], остатки которой входят в состав нескольких основных молекулярных видов неполярного липидома мягкого коралла *S. siaesensis* (прил.1, табл. 1).

Полярный липидом

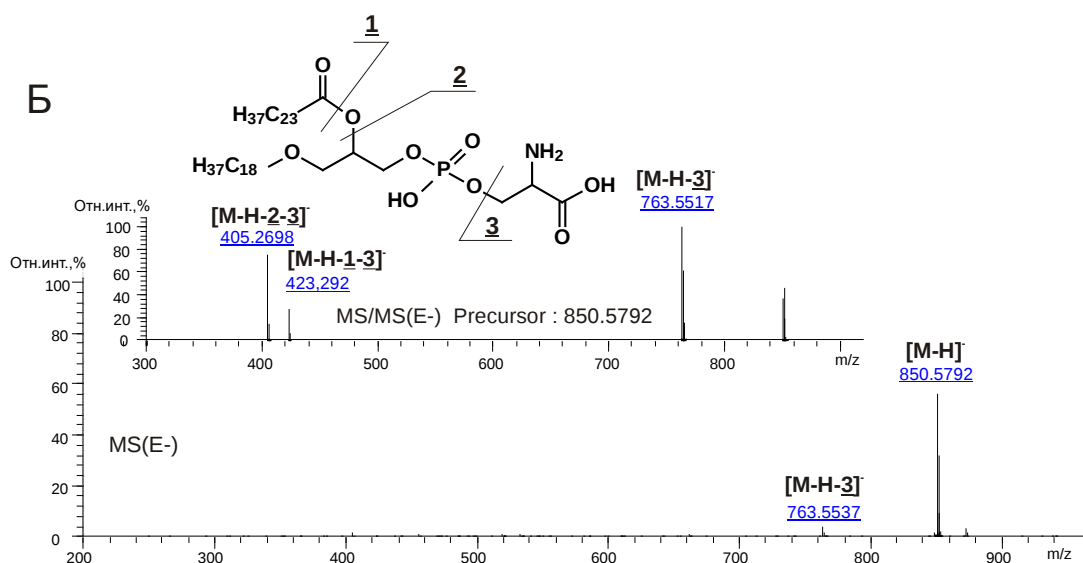
В полярной части липидома альционарии *S. siaesensis* присутствовали фосфолипид ЦАЭФ, глицерофосфолипиды ФЭ, ФХ, ФС, ФИ и ЛФХ, а также гликолипиды МГДГ, ДГДГ и СХДГ. Липиды по классам разделяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на полярной фазе, время удерживания молекулярных видов ФЭ, ФХ, ЦАЭФ, ФС и ФИ находилось в интервале 3–5, 5–8, 7–11, 10–12 и 12–17 минут, соответственно. Структуру молекулярных видов определяли методом tandemной масс-спектрометрии (MS/MS) высокого разрешения в режиме ионизации распылением в электрическом поле (ESI).

На рисунках 9 и 10 для каждого класса липидов показаны масс-спектры и схемы фрагментации молекулярных ионов на примере одного из молекулярных видов этого класса. На рисунке 9А представлены масс-спектры ЦАЭФ 18:2b/16:0. В спектре положительных ионов наблюдали сигналы ионов $[M+Na]^+$ (m/z 665.4990), $[M+H]^+$ (m/z 643.5186), $[M+H-2]^+$ (m/z 518.4931, отрыв полярной части 2) и $[M+H-2-3]^+$ (m/z 500.4820, отрыв полярной части 2 и воды 3). В спектре отрицательных ионов присутствовал сигнал $[M-H]^-$ (m/z 641.4881), который в MS/MS спектре после отрыва кетена 1 давал ион $[M-H-1]^-$ с m/z 403.2647.

А



Б



В

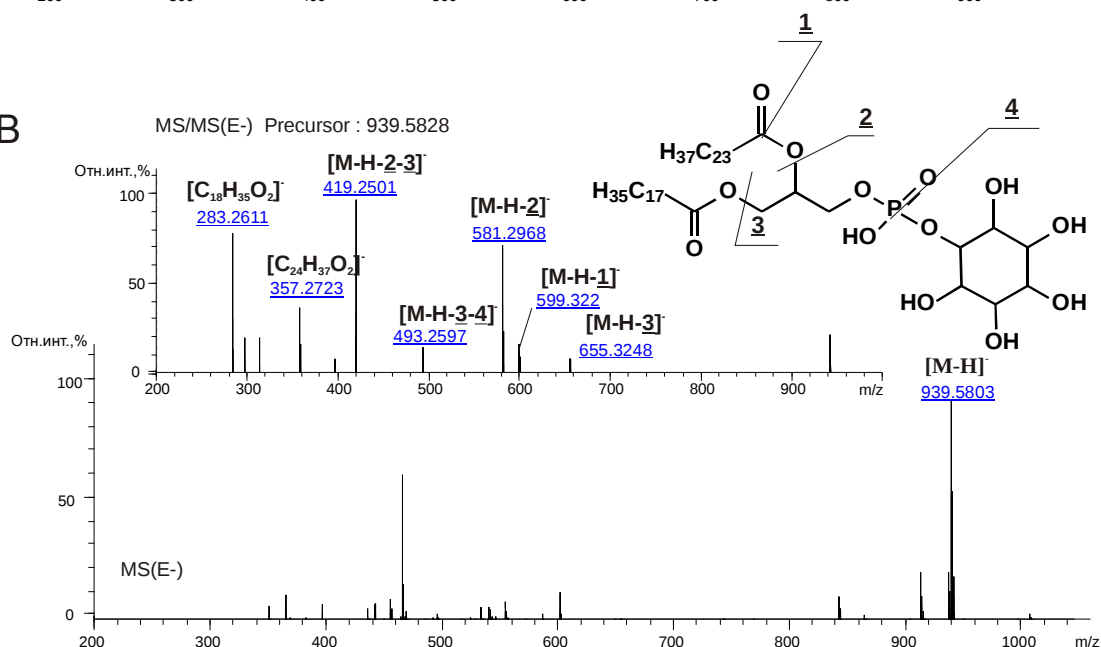


Рисунок 9 – Масс-спектры и схемы фрагментации полярных липидов мягкого коралла *Sinularia siaesensis*: (А) церамидаминоэтилфосфонат ЦАЭФ 18:2b/16:0; (Б) алкилацилглицерофосфосерин ФС 18:0e/24:5; (В) диацилглицерофосфоинозит ФИ 18:0/24:5. MS(E+) – масс-спектр в режиме регистрации положительных ионов, MS(E-) и MS/MS(E-) – масс-спектр и MS² спектр в режиме регистрации отрицательных ионов

На рисунке 9Б представлены масс-спектры ФС 18:0alk/24:5. Депротонированный молекулярный ион $[M-H]^-$ (m/z 850.6792) в MS/MS-спектре дает фрагменты, образованные при отрыве остатков серина **3** $[M-H-3]^-$ (m/z 763.5517), кетена **1** и серина **3** $[M-H-1-3]^-$ (m/z 423.2920), а также ЖК **2** и серина **3** $[M-H-2-3]^-$ (m/z 405.2698). На рисунке 9В представлены масс-спектры ФИ 18:0/24:5. Ион $[M-H]^-$ (m/z 939.5803) в MS/MS спектре дает серию интенсивных сигналов, соответствующий фрагментам, образованных при потере различных комбинаций инозита, кетена и ЖК. Также наблюдаются сигналы ионов двух кислот $[C_{18}H_{35}O_2]^-$ (m/z 283.2611) и $[C_{24}H_{37}O_2]^-$ (m/z 357.2723).

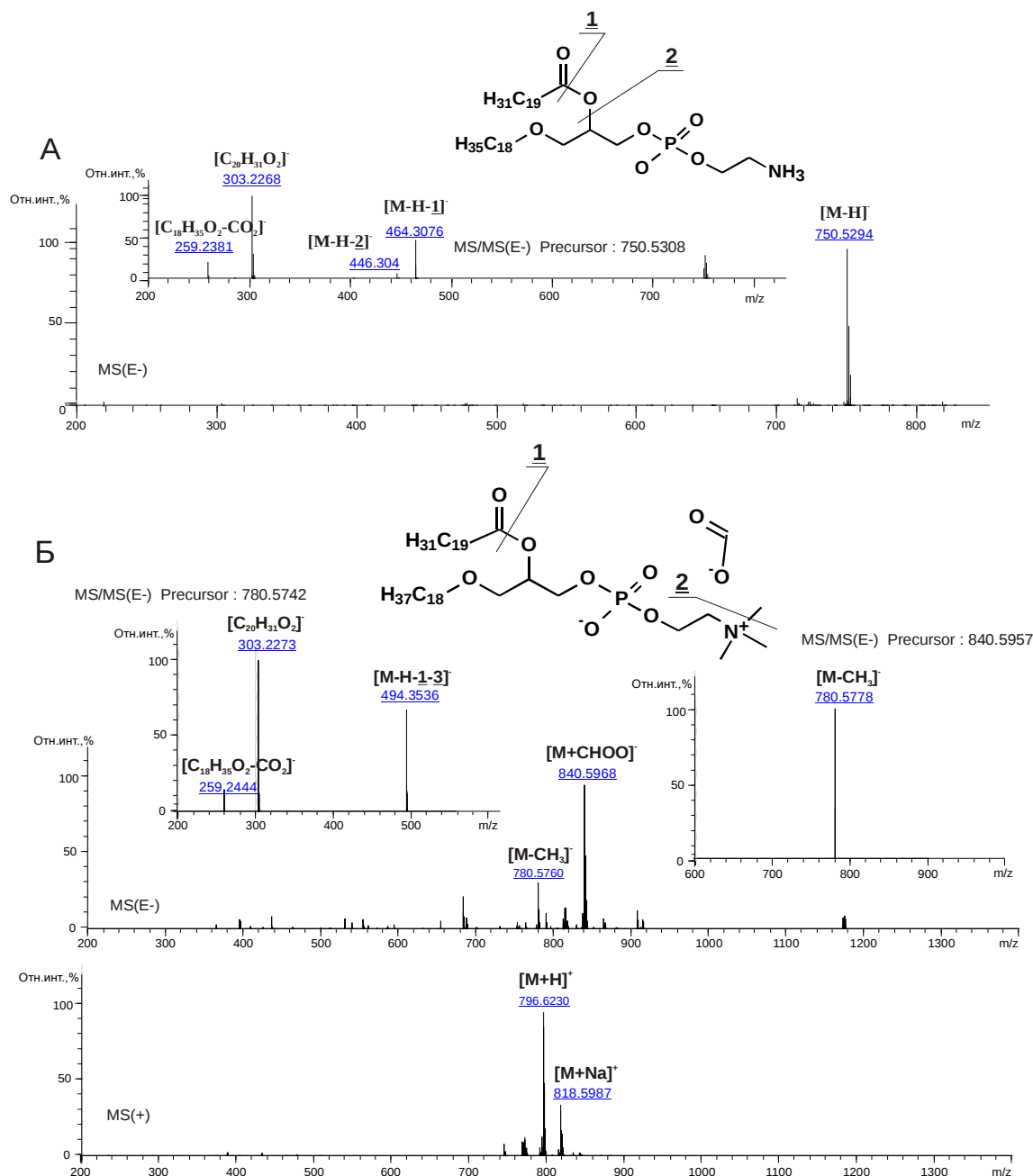


Рисунок 10 – Масс-спектры и схемы фрагментации полярных липидов мягкого коралла *Sinularia siaesensis*: (А) алкилацилглицерофосфэтаноламин ФЭ 18:0e/20:4; (Б) алкилацилглицерофосфохолин ФХ 18:0alk/20:4. MS(E+) – масс-спектр в режиме регистрации положительных ионов, MS(E-) и MS/MS(E-) – масс-спектр и MS² спектр в режиме регистрации отрицательных ионов

На рисунке 10А представлены масс-спектры ФЭ 18:0e/20:4. Спектр MS/MS показывает, что ион $[M-H]^-$ (m/z 750.5294) теряет кетен **1** и ЖК **2**, образуя фрагменты $[M-H-1]^-$ и $[M-H-2]^-$, соответственно. Этот спектр также содержит сигналы ионов $[C_{20}H_{31}O_2]^-$ (m/z 303.2268) и $[C_{18}H_{35}O_2-CO_2]^-$ (m/z 259.2381). На рисунке 10Б представлены масс-спектры ФХ 18:0alk/20:4. Масс-спектр положительных ионов содержит сигналы с m/z 796.6230 ($[M+H]^+$) и m/z 818.5987 ($[M+Na]^+$). В масс-спектре отрицательных ионов есть интенсивные сигналы аддукта $[M+HCOO]^-$ (m/z 840.5968) и фрагмента $[M-CH_3]^-$ (m/z 780.5760), который, в свою очередь, в MS/MS-спектре дает фрагмент $[M-H-1-2]^-$ (m/z 494.3536), а также ионы $[C_{20}H_{31}O_2]^-$ (m/z 303.2268) и $[C_{18}H_{35}O_2-CO_2]^-$ (m/z 259.2381).

ГЛ анализировали в тех же условиях, что и ФЛ, при этом времена удерживания МГДГ, ДГДГ и СХДГ находились в интервалах 2.5–3.5, 11–14 и 13–15.5 мин соответственно. Молекулярные виды всех классов гликолипидов образовывали ионы $[M-H]^-$, однако ионы МГДГ не давали фрагментов в MS/MS-спектре, поэтому для МГДГ *S. siaesensis* определили только брутто-формулы молекулярных видов. MS/MS-спектры ДГДГ и СХДГ содержали интенсивные сигналы фрагмент-ионов, образованных при потере остатков ЖК. При расшифровке масс-спектров гликолипидов использовали установленные ранее закономерности [101].

В полярном липидоме альционии *S. siaesensis* идентифицировали 52 молекулярных видов ФЛ, главными компонентами были (в процентах от общих липидов): ФС 18:0alk/24:5 (1.202%), ЛФХ 18:0alk (1.055%), ФЭ 18:1alk/20:4 (0.909%), ФХ 18:0alk/20:4 (0.510%), ЦАЭФ 18:2b/16:0 (0.433%), СХДГ 14:0/16:0 (0.410%), ФИ 18:0/24:5 (0.196%) (прил.1, табл. 1).

В исследованном виде альционии остатки ТПЖК, хемотаксономических маркеров октокораллов [8, 94], были сосредоточены в молекулярных видах ФС и, частично, ФИ (прил.1, табл. 1). Аналогичное распределение остатков ТПЖК между классам фосфолипидов было отмечено для других видов тропических и холодноводных альционий [76, 77]. Примечательно, что молекулярный вид ФС 18:0alk/24:5, содержащий остаток ТПЖК, является одним из ключевых компонентов липидома альционии *S. siaesensis*. Сравнение полярных липидомов *S. siaesensis* и других тропических альционий [139] подтверждает, что подавляющее большинство молекулярных видов ФЭ, ФХ и ФС этих животных находятся в алкилацильной форме, в то время как для молекулярных видов ФИ характерна диацильная форма (прил. 1., табл. 1). Поскольку МГДГ, ДГДГ и СХДГ являются главными классами липидов тилакоидных мембран растений, присутствие этих классов липидов закономерно для полного липидома мягкого коралла (прил. 1, табл. 1), содержащего зооксантеллы. Примечательно, что СХДГ 14:0/16:0 является одним из ключевых компонентов полного липидома *S. siaesensis*.

Наличие в липидоме *S. siaesensis* молекулярных видов с ацильными остатками ТПЖК является следствием фундаментальных особенностей биосинтеза липидов в октокораллах, а доминирование насыщенных восков в запасных липидах, заметная доля МГДГ, ДГДГ и СХДГ, а также использование ПНЖК зооксантелл в синтезе липидов организма-хозяина, указывает на важность зооксантелл в формировании липидного профиля симбиотических мягких кораллов. Таким образом, полный липидом мягких кораллов зависит не только от особенностей биосинтеза липидов этих животных, но и отражает влияние ассоциированных организмов.

Аналогичным образом был проведен липидомный анализ для мягкого коралла *S. heterospiculata* (прил. 1, табл. 1). Липидом данного вида альционии был похож на липидом *S. siaesensis*, это говорит о том, что описанные выше особенности липидома являются характерными не только для конкретного вида, но и для всего рода *Sinularia*.

2.1.2 Зоантария *Palythoa tuberculosa* (Anthozoa: Hexacorallia: Zoantharia: Sphenopidae)

Основными классами липидов в *P. tuberculosa* были ФЛ, ЭВ, ТГ+МАДАГ, ГЛ, СТ и углеводороды, которые составили 39.54 ± 2.02 , 8.24 ± 1.32 , 6.34 ± 1.63 , 4.04 ± 0.37 , 3.96 ± 1.43 и $1.69 \pm 0.19\%$ от общего липидного экстракта, соответственно (рис. 11, А). Доминирование фосфолипидов в общих липидах отличало исследованный вид зоантарии от рифообразующих кораллов, а также альционий и горгоний [8, 105].

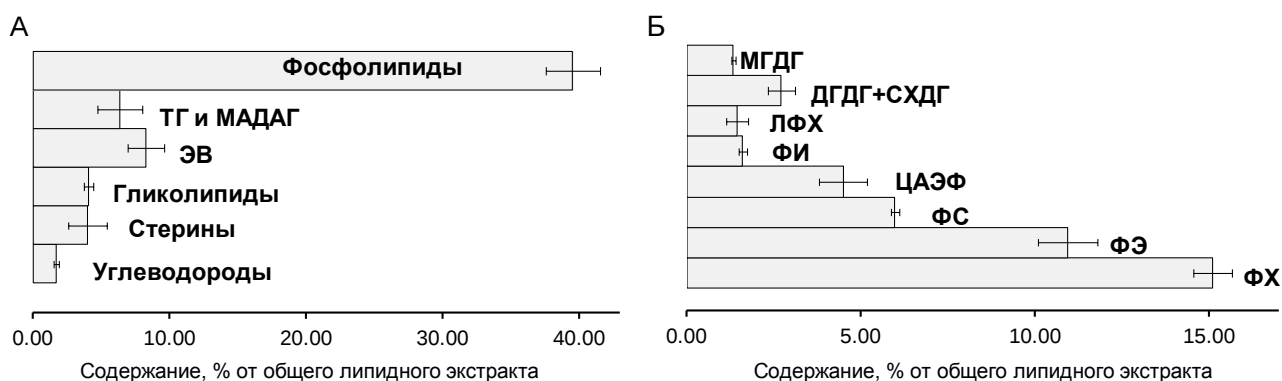


Рисунок 11 – Состав основных классов (% от общего липидного экстракта, среднее $\pm$ SD) (А) общих липидов и (Б) полярных липидов зоантарии *Palythoa tuberculosa*. См. в тексте расшифровку сокращений для полярных классов липидов

Неполярный липидом

Неполярные липиды составили $20.23 \pm 3.37\%$ от общего липидного экстракта *P. tuberculosa*. Основными молекулярными видами ЭВ были пальмитоилпальмитат (16:0/16:0) и пальмитоилстеарат (16:0/18:0). Насыщенные молекулярные виды составили $75.05 \pm 2.03\%$, моно- и диненасыщенные – $17.79 \pm 1.68\%$ и ЭВ с жирными кислотами и спиртами, имеющими

нечетное число атомов углерода – $1.27 \pm 0.27\%$ от суммы ЭВ. В симбиотической альционии *S. siaesensis* также доминировали насыщенные молекулярные виды, а ненасыщенные составили не более 6.8% от суммы ЭВ; аналогичное распределение нами было найдено в двух других видах симбиотических мягких кораллов. В отличие от альционий, симбиотические твердые кораллы содержали до 47% ненасыщенных молекулярных видов ЭВ.

Состав молекулярных видов ТГ и МАДАГ зоантарии *P. tuberculosa* представлен в приложении 1 (табл. 1). Основными молекулярными видами ТГ были 16:0/16:0/18:0, 16:0/16:0/16:0 и 22:5/16:0/16:0. Среди МАДАГ преобладали 18:0alk/20:4/16:0, 16:0alk/20:4/16:0 и 16:0alk/20:5/16:0. Липидный экстракт содержал большое количество молекулярных видов ТГ и МАДАГ, в состав которых входят 20:4 и 22:5, например, ТГ 20:4/16:0/16:0 ($3.42 \pm 1.43\%$), МАДАГ 16:0alk/20:4/16:0 ($12.72 \pm 1.64\%$), МАДАГ 18:0alk/20:4/16:0 ($10.58 \pm 1.40\%$), ТГ 22:5/16:0/16:0 ($7.20 \pm 3.81\%$) и МАДАГ 16:0alk/22:5/16:0 ($5.36 \pm 1.73\%$). Основные молекулярные виды ТГ и МАДАГ мягкого коралла *S. siaesensis* имеют насыщенные ЖК 16:0 и 18:0, так же как ТГ и МАДАГ других видов синулярий [96]. В молекулах ТГ рифообразующих кораллов преобладали ацильные группы 16:0 и 18:1n-9 [3, 96]. Основными заместителями в положении sn-1 молекул МАДАГ в *P. tuberculosa* были C₁₆ и C₁₈ алкильные группы, также как в горгониевых кораллах [83]. Такие ПНЖК, как 20:4, 22:5 и 22:6, характерны для тканей животных, и присутствие молекулярных видов ТГ и МАДАГ, содержащих остатки этих ПНЖК, закономерно для книдарий. Также были обнаружены молекулярные виды ТГ и МАДАГ: 18:3/16:0/16:0 ($2.27 \pm 1.97\%$); 18:0alk/18:3/16:0 ($1.60 \pm 0.34\%$); 18:0alk/18:3/18:0+18:0alk/20:4/18:0 ($2.11 \pm 0.46\%$) и 16:0alk/18:3/16:0 + 16:0alk/18:3/16:0 (7.63 ± 1.15), что возможно свидетельствует о транспорте ПНЖК зооксантелл к полипу.

Таким образом, общее содержание и распределение по классам неполярных липидов зоантарии *P. tuberculosa* характерно для коралловых полипов [104]. По содержанию моно- и диненасыщенных молекулярных видов восков *P. tuberculosa* занимает промежуточное положение между рифообразующими и мягкими кораллами.

Полярный липидом

Общий липидный экстракт зоантарии *P. tuberculosa* содержал большое количество полярных липидов ($39.54 \pm 2.02\%$): основными классами ФЛ (% от общих липидов) были ФХ ($15.10 \pm 0.55\%$), ФЭ ($10.93 \pm 0.58\%$) и ФС ($5.98 \pm 0.11\%$), как и в зоантарии *Palythoa carzbaeorum* [104]. Кроме того, были идентифицированы ФИ ($1.6 \pm 0.13\%$), ЦАЭФ ($4.49 \pm 0.70\%$) и ЛФХ ($1.44 \pm 0.31\%$) (рис. 11, Б). Присутствие этих шести классов фосфорсодержащих липидов характерно для всех рифообразующих и мягких кораллов [9]. Состав молекулярных видов полярных липидов *P. tuberculosa* представлен в приложении 1. Большинство молекулярных

видов ФЭ имели плазмалогенную форму ($90.56 \pm 1.73\%$ от суммы ФЭ) и содержали остатки кислот 20:4n-6 и 17:1 (51.89 ± 0.71 и $17.88 \pm 1.27\%$), а в составе ФИ превалировали диацильные молекулярные виды ($88.99 \pm 0.45\%$ от суммы ФИ) с остатками кислот 22:4 ($64.93 \pm 1.74\%$) и 22:5 ($23.5 \pm 0.48\%$). Аналогичная разница в форме и составе ЖК между молекулярными видами ФЭ и ФИ была ранее обнаружена в нескольких видах тропических альционарий [76, 78]. Необычные молекулярные виды с остатками 17:1 (прил. 1, табл. 1) указывают на участие ассоциированных бактерий в формировании пула ФЭ. Среди ФХ из *P. tuberculosa* были обнаружены как алкилацильные ($55.04 \pm 0.48\%$), так и диацильные молекулярные виды ($40.94 \pm 2.19\%$). Липидный экстракт содержит большое количество молекулярных видов ФХ, в состав которых входят ПНЖК 20:4, 22:4 и 22:5, например, 16:0alk/20:4 ($15.30 \pm 3.12\%$), 16:0/22:4 ($11.42 \pm 1.28\%$) и 16:0alk/22:5 ($10.23 \pm 0.97\%$). В составе молекулярных видов ФХ тропических альционарий диацильные молекулярные виды практически отсутствовали [76, 78]. Наличие диацильных форм ФХ отмечено для тропических гидрокораллов, а также холодноводных гидрокораллов и мягких кораллов [139]. Подобно холодноводным мягким кораллам рода *Gersemia* [78], ФС из *P. tuberculosa* были представлены алкилацильными ($62.77 \pm 4.02\%$) и диацильными ($36.45 \pm 3.98\%$) молекулярными видами. Диацильные формы ФС содержали, в основном, 22:4 и 22:5, тогда как алкилацильные формы – широкий спектр C_{20-24} ПНЖК (20:2, 20:3, 20:4, 22:2, 22:3, 22:4, 22:5, 24:2, 24:3 и 24:4). В отличие от фосфолипидов, для которых профиль молекулярных видов формировался за счет различных остатков ЖК, разнообразие молекулярных видов ЦАЭФ и ЦМАЭФ зоантарии *P. tuberculosa* определял набор сфингозиновых оснований, содержащих 18-20 атомов углерода и 1-2 двойные связи (прил. 1, табл. 1). Аналогичные особенности химической структуры молекулярных видов ЦАЭФ наблюдали ранее в кораллах и гидрокораллах [139]. ЦАЭФ, как и МАДАГ, является маркером тканей организма-хозяина в симбиотическом сообществе коралловых полипов [78].

Состав ЖК липидов каждого таксона в значительной степени определяется его генетически обусловленной способностью синтезировать определенный набор ЖК. Благодаря этому, ЖК успешно используют в хемосистематике различных таксономических групп, в частности, бактерий, грибов, макро- и микроводорослей, а также кораллов [4, 8, 152]. Метод маркерных ЖК часто используется для характеристики липидов симбионтов, организма-хозяина и передачи ЖК между членами симбиотического сообщества коралла [11]. Маркерными ЖК зооксантелл в симбиотических видах коралловых полипов считаются 18:3n-6 и 18:4n-3 [8, 123], поэтому обнаружение молекулярных видов МАДАГ, специфических для организма-хозяина, содержащих маркерные ЖК зооксантелл (18:3), указывает на возможность транспорта ПНЖК от симбионтов к хозяину в зоантарии *P. tuberculosa*. Книдарии подкласса *Octocorallia* синтезируют редкие ТПЖК, которые являются хемотаксономическими маркерами

этого таксона [8, 94]. Книдарии подкласса *Hexacorallia* не способны синтезировать ТПЖК, однако другие ненасыщенные сверхдлинноцепочечные C_{24} ЖК, содержащие от 1-ой до 4-х двойных связей, были найдены в составе ЖК общих липидов зоантарии *Palythoa caesia* [105] и рифообразующих кораллов рода *Porites* [86]. Для полярных липидов мягких кораллов было показано, что ТПЖК сосредоточены в молекулярных видах ФС [76, 78]. В исследованной нами зоантарии C_{24} ПНЖК также входили в состав молекулярных видов ФС. Ранее было установлено, что молекулярные виды ФС рифообразующих кораллов и гидрокораллов содержали остатки C_{22} ПНЖК, т.е. кислоты с максимальной длиной цепи среди всего набора ПНЖК, которые синтезируются этими животными [139]. Вероятно, для обеспечения некоторых функций своих клеток, книдарии используют для построения клеточных мембран молекулярные виды ФС с остатками ПНЖК, имеющими «длину» (число атомов в углеродной цепи), максимально возможную для данного таксона.

Молекулярные виды маркерных липидов зооксантелл

Состав молекулярных видов липидов зооксантелл зоантарии *P. tuberculosa* представлен в приложении 1 (табл. 1). Три класса гликолипидов (СХДГ, МГДГ и ДГДГ) составляют структурную основу мембран фотосинтетического аппарата клеток зооксантелл [113]. Молекулярные виды сульфатированного гликолипида СХДГ из *P. tuberculosa* содержали, в основном, остатки насыщенных и моноеновых кислот (14:0, 14:1, 16:0 и 16:1). В отличие от СХДГ, молекулярные виды МГДГ ($1.33 \pm 0.07\%$ от липидного экстракта) и ДГДГ содержали полиненасыщенные ЖК 16:3, 18:3, 18:4, 18:5 и 20:5, которые используют, как маркеры присутствия зооксантелл в организме книдарии [8, 83, 105, 123].

В зоантарии *P. tuberculosa* методом ВЭЖХ-МС был идентифицирован бетаиновый липид ДГКХ. Основными молекулярными видами ДГКХ были диацильные 16:0/18:4 и 16:0/22:6 (12.96 ± 2.56 и $50.95 \pm 1.29\%$ от суммы ДГКХ). Очевидно, что источником ДГКХ в зоантарии *P. tuberculosa* являются её симбионты. Заметная доля гликолипидов, а также использование уникальных ПНЖК зооксантелл в синтезе липидов организма-хозяина, указывает на важность зооксантелл в формировании липидома симбиотических книдарий.

Таким образом, расшифрован полный липидом первого представителя отряда *Zoanthidea*, установлены сходство и различие состава молекулярных видов липидов симбиотической зоантарии *P. tuberculosa* и некоторых других групп коралловых полипов, в частности, гидрокораллов, рифообразующих и мягких кораллов, определены особенности распределения остатков ЖК в молекулах основных классов липидов зоантарии, охарактеризован липидный профиль симбиотических микроводорослей этого животного.

2.1.3 Рифообразующий коралл *Acropora cerealis* (Anthozoa: Hexacorallia: Scleractinia: Acroporidae)

Основными классами липидов в *A. cerealis* были фосфолипиды, воски, ТГ, стерины и гликолипиды (ДГДГ+СХДГ), которые составили 29.17 ± 7.55 , 11.68 ± 1.07 , 8.04 ± 2.90 , 4.41 ± 1.99 и $3.90 \pm 1.29\%$ от общего липидного экстракта, соответственно (прил.1, табл. 1). Преобладание фосфолипидов в общих липидах данного образца акропоры (род *Acropora*) может быть результатом влияния сезонных и географических факторов [3, 8]. В липидном экстракте *A. cerealis* также были обнаружены углеводороды, свободные ЖК. и МАДАГ, присутствие которых характерно для состава неполярных липидов книдарий [83, 123].

Неполярный липидом

Основным классом запасных липидов были воски, среди которых преобладали молекулярные виды 16:0/16:0, 16:0/14:0+14:0/16:0 и 18:0/16:0 (67.30 ± 2.76 , 11.37 ± 1.83 и $6.98 \pm 0.31\%$ от суммы ЭВ, соответственно) (прил. 1, табл. 1). На насыщенные молекулярные виды ЭВ пришлось $83.78 \pm 5.52\%$, на моно- и диеновые ЭВ – $8.59 \pm 2.55\%$ и на ЭВ с жирными кислотами и жирными спиртами, имеющими нечетное число атомов углерода – $0.48 \pm 0.23\%$ от суммы ЭВ. Среди трёх видов книдарий, исследованных в данной работе, уровень ненасыщенных молекулярных видов ЭВ у синулярии (7.18%) был близок к таковому у акропоры, а зоантария содержала вдвое больше ненасыщенных ЭВ ($17.79 \pm 1.68\%$), чем акропора. В двух других видах акропор (см. разд. 3.1.5) мы обнаружили значительно большее количество ненасыщенных ЭВ (43.5% в *A. acuminate* и 31.6% в *A. cytherea* от суммы ЭВ). Возможно, что такое различие в пропорции между насыщенными и ненасыщенными молекулярными видами ЭВ у разных видов кораллов одного рода *Acropora* связано с различиями в их питании, сезоне и глубине сбора образцов.

Состав молекулярных видов ТГ рифообразующего коралла *A. cerealis* представлен в приложении 1 (табл. 1). Основными молекулярными видами ТГ были 18:3/16:0/16:0, 16:1/16:0/16:0+22:6/16:0/16:0 и 16:0/16:0/16:0 (19.44 ± 1.58 , 15.53 ± 2.94 и $11.02 \pm 1.63\%$ от суммы ТГ, соответственно). Липиды акропоры содержали большое количество молекулярных видов ТГ, в состав которых входили 18:3 и 18:4 ПНЖК, при этом молекулярные виды 18:4/16:0/16:0 (в сумме с 22:6/32:1), 18:3/16:0/14:0 (в сумме с 14:0/16:0/14:0), 22:6/16:0/18:3+18:3/16:0/16:1, 18:3/16:0/16:0, 18:3/16:0/18:3, 18:3/18:1/16:0, 18:3/18:0/18:3 и 18:3/18:0/16:0 вместе составили $39.03 \pm 4.96\%$ от суммы ТГ. По профилю ТГ акропора значительно отличалась от синулярии *S. siaesensis*, в которой основными молекулярными видами были насыщенные ТГ 16:0/16:0/16:0 (18.09%) и 16:0/16:0/18:0 (3.69%), а ненасыщенные ТГ, например, 18:3/16:0/16:0 присутствовали

в следовых количествах (прил. 1, табл. 1). Профили ТГ зоантарии *P. tuberculosa* и акропоры *A. cerealis*, которые относятся к одному подклассу Нехасораллия, также заметно отличались (прил. 1, табл. 1). Основными молекулярными видами ТГ зоантарии были насыщенные 16:0/16:0/16:0 и 16:0/16:0/18:0. а также присутствовали молекулярные виды с C₂₀₋₂₂ ПНЖК, например, 20:4/16:0/16:0 и 22:5/16:0/16:0.

Следует отметить, что липиды исследованных видов синулярии и зоантарии содержали существенно больше МАДАГ, чем липиды акропоры. Ранее было обнаружено, что липиды 11 видов склерактиниевых кораллов содержат гораздо меньше МАДАГ, чем ТГ, например, в липидах *Acropora microphthalma* содержатся 16.2% ТГ и 2.07% МАДАГ [3]. В работе по изучению липидов тропических кораллов Южно-Китайского моря отмечено, что содержание МАДАГ у рифообразующих кораллов рода *Acropora* было на порядок меньше, чем содержание ТГ [8]. В других работах по изучению липидов и ЖК в рифообразующих кораллах *Seriatopora hystrix*, *Pachyseris speciosa* и *Euphyllia glabrescens* среди неполярных липидов были обнаружены только ЭВ и ТГ [90, 153]. Возможно, что низкий уровень МАДАГ является особенностью некоторых родов рифообразующих кораллов.

Полярный липидом

Основными классами фосфолипидов рифообразующего коралла *A. cerealis* были ФХ (10.85±3.77 %), ФЭ (7.25±1.78 %), ФС (2.89±0.72%), ФИ (0.93±0.35 %) и ЛФХ (0.55±0.25%), а также фосфонолипид ЦАЭФ (7.19±3.39% от липидного экстракта). Обнаруженные классы полярных липидов являются характерными для кораллов [9, 139]. Состав молекулярных видов полярных липидов акропоры представлен в приложении 1.

Среди ФХ из *A. cerealis* обнаружили, в основном, алкилацильные молекулярные виды (78.62±0.36% от суммы ФХ). Акропора содержала большое количество молекулярных видов ФХ, в состав которых входили как C₂₀, так и C₂₂ ПНЖК, например, 16:0alk/20:5; 16:0alk/20:4, 16:0alk/22:5 и 16:0alk/22:4 (19.20±0.96, 18.27±1.07, 13.03±0.55 и 15.22±0.84% от суммы ФХ, соответственно).

В отличие от ФХ, профиль молекулярных видов ФЭ у акропоры практически не отличался от такового у синулярии *S. siaesensis*. На алкилацильные молекулярные виды акропоры пришлось 98.23±0.13% от суммы ФЭ. Основными молекулярными видами ФЭ были 18:1alk/20:4, 16:1alk/20:4, 18:1alk/20:5, 16:1alk/20:5 и 20:1alk/20:4, при этом молекулярные виды с «нечетными» ЖК, которые считаются маркерами бактерий [152], не были обнаружены в ФЭ акропоры, в отличие от ФЭ синулярии и зоантарии. Возможно, что *A. cerealis* потребляет с пищей меньше таких ЖК и/или содержит меньшее количество ассоциированных бактерий, источника ЖК с нечётным числом атомов углерода.

Все обнаруженные молекулярные виды ФС акропоры находились в диацильной форме. В состав молекул ФС входила кислота 22:4, а молекулярных вид 18:0/22:4 составил $78.26 \pm 2.37\%$ от суммы ФС (прил. 1, табл. 1). В составе ФИ акропоры преобладали диацильные молекулярные виды ($92.48 \pm 0.99\%$) с остатками 22:4 и 22:5 ($56.61 \pm 2.21\%$ 18:0/22:4, $18.12 \pm 2.40\%$ 18:0/22:5 и $10.32 \pm 0.15\%$ 16:0/22:6 от суммы ФИ).

Состав молекулярных видов фосфолипидов акропоры также значительно отличался от ЦАЭФ других видов коралловых полипов, исследованных в нашей работе (прил. 1, табл. 1). Основными молекулярными видами были ЦАЭФ с дополнительной гидроксильной группой, которая присутствовала не только в остатке ЖК, но и в сфингозиновом основании, например, молекулярным вид 18:2ОНb/16:0 составил $43.12 \pm 6.62\%$ от суммы ЦАЭФ акропоры.

Три класса гликолипидов (СХДГ, МГДГ и ДГДГ), которые мы обнаружили в общих липидах акропоры, являются липидами фотосинтетического аппарата растений [113] и биохимическими маркерами зооксантелл (прил.1, табл. 1). В акропоре, так же как и в других исследованных нами видах коралловых полипов, молекулярные виды сульфатированного гликолипида СХДГ содержали остатки насыщенных и моноеновых кислот (14:0, 14:1, 16:0 и 16:1). Молекулярные виды МГДГ и ДГДГ содержали остатки ПНЖК 16:3, 18:3, 18:4, 18:5 и 20:5, которые являются маркерами симбиотических динофлагеллят [8, 83, 105].

Таким образом, на примерах *A. cerealis*, *P. tuberculosa*, *S. siaesensis* и *S. heterospiculata* впервые расшифрованы полные липидомы рифообразующего коралла, зоантарии и мягкого коралла. Установлены сходство и различия состава молекулярных видов липидов этих симбиотических видов из трёх разных отрядов коралловых полипов. Определены особенности распределения остатков ЖК в молекулах основных классов липидов этих животных. Охарактеризован профиль маркерных липидов их симбиотических микроводорослей. Ранее были получены сведения о полярной части липидома рифообразующего коралла [79, 87-89] и некоторых альционарий [76, 77, 139], а липидом зоантарий не исследовали, поэтому полученные нами сравнительные данные позволяют расширить знания в области липидомики морских беспозвоночных.

2.1.4 Сравнение липидомов зооксантелл, выделенных из *P. tuberculosa* и *S. heterospiculata*

Из тканей коралловых полипов различных подклассов: альционарии *S. heterospiculata* (Octocorallia) и зоантарии *P. tuberculosa* (Hexacorallia) были выделены фракции чистых зооксантелл, которые обозначили, как ZS и ZP, соответственно. Генетическими методами было установлено, что альционария содержала зооксантеллы клада C (*Cladocopium* C1 и C3), а зоантария содержала смесь зооксантелл клада C (*Cladocopium* C1 и C3) и клада D (*Durusdinium trenchii*). Известно, что симбиотические динофлагелляты рода *Durusdinium* более устойчивы к

действию повышенной температуры по сравнению с *Cladocopium*, поэтому фракцию ZP рассматривали, как термоустойчивую, а фракцию ZS – как термочувствительную. Для каждой фракции (ZS и ZP) определили состав общих липидов и полный липидом (состав молекулярных видов всех классов липидов).

Состав общих липидов

Основными классами липидов микроводорослей являются мембранные липиды (ГЛ, ФЛ и БЛ) и запасные липиды (ТГ и ЭВ); в небольших количествах содержатся сфинголипиды, углеводороды и стерины [113]. В составе общих липидов зооксантелл, выделенных из альционии и зоантарии, преобладали ГЛ и ФЛ (рис.12), содержание которых в ZS и ZP было сходным (HSD test, $p > 0.05$). В меньших количествах присутствовали ТГ, ЭВ, стеролы и углеводороды. Общие липиды ZS содержали больше ТГ, но меньше стеринов, чем общие липиды ZP (HSD test, $p < 0.05$) (рис. 12). Среди фосфолипидов ZS идентифицировали ФХ, а в фосфолипидах ZP обнаружили ФХ, лизо-ФХ и ФЭ. По данным метода ВЭЖК-МС в обеих фракциях зооксантелл присутствовал бетаиновый липид ДГКХ.

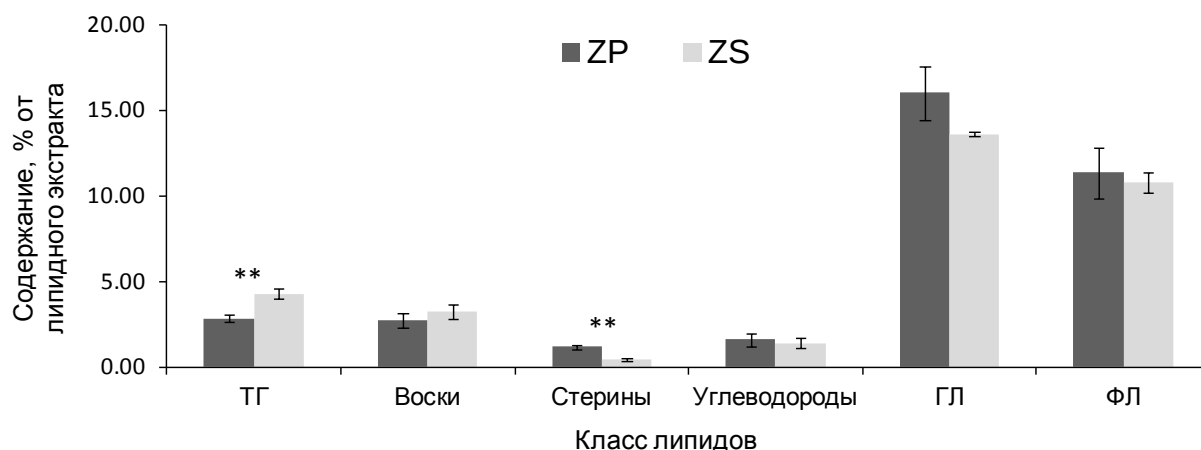


Рисунок 12 – Содержание основных классов липидов (% от общих липидов) в зооксантеллах, выделенных из альционии *S. heterospiculata* (ZS) и зоантарии *P. tuberculosa* (ZP)

ГЛ, ФХ, ДГКХ и ТГ были ранее обнаружены в свободноживущих динофлагеллятах *Peridinium aciculiferum* [126]. В липидах симбиотических внутриклеточных динофлагеллят *Durusdinium trenchii* и *Cladocopium* C3 из рифообразующего коралла *Acropora valida* присутствовали ГЛ, ДГКХ, лизо-ДГКХ, ФХ, лизо-ФХ, ФГ и ФЭ [120]. Зооксантеллы альционии *Clavularia viridis* содержали несколько классов ГЛ и небольшое количество ФЛ. [109]. В липидах зооксантелл из альционии *Sinularia* sp. преобладали ГЛ и ФЛ [123]. Известно, что микроводоросли могут содержать небольшие количества ФС и ФИ [113], но такие фосфолипиды не были идентифицированы в ZS и ZP. Таким образом, исследованные

нами зооксантеллы *Cladocopium* sp. и *D. trenchii* имели сходный профиль основных классов липидов, типичный для микроводорослей и симбиотических динофлагеллят [113, 120, 126, 154]. Липиды ЦАЭФ и МАДАГ, характерные для тканей организма-хозяина, отсутствовали в общих липидах зооксантелл, что подтвердило чистоту полученных нами фракций ZS и ZP.

Состав молекулярных видов бетаиновых липидов и гликолипидов

БЛ являются структурными компонентами мембран растительных клеток и заменяют ФЛ у низших растений. БЛ и ФЛ синтезируются в эндоплазматическом ретикулуме. Некоторые БЛ являются предшественниками для хлоропластных липидов, например, экстрапластидный бетаиновый липид ДГКХ обеспечивает перенос ЖК из цитоплазмы в хлоропласты для биосинтеза МГДГ [113, 126]. В хлоропластах из диацилглицеридов и уридинфосфатгалактозы при действии МГДГ-синтазы образуются молекулы МГДГ, которые затем используются как субстрат в биосинтезе бислойобразующего гликолипида ДГДГ [113]. В растительных клетках СХДГ находится в мембранах хлоропластов. Этот класс гликолипидов вносит вклад в поддержание правильной структуры и тепловой устойчивости фотосистемы II [113].

Во фракциях ZP и ZS идентифицировали 10 молекулярных видов ДГКХ, два из которых (16:0/22:6 и 40:9) составили около 60% от суммы ДГКХ (прил.1, табл. 1; рис. 16). ZP содержали больше 40:9 ДГКХ, но меньше 16:0/20:5 ДГКХ, чем ZS (HSD test, $p < 0.05$). Флайм и др. [126] установили, что у свободноживущего вида динофлагеллят *P. aciculiferum* основными молекулярными видами ДГКХ были 36:6, 38:6 и 44:12. Недавно на примере симбиотического рифообразующего коралла *A. valida* было показано, что в зооксантеллах *D. trenchii* основными молекулярными видами ДГКХ были 38:6, 42:11 и 44:12, а в зооксантеллах *Cladocopium* C3 – 38:6, 36:5 и 44:12, при этом 44:12 составил около 11% от суммы ДГКХ [120]. Молекулярный вид 22:6/22:6 (или 44:12) составил не более 3% от суммы ДГКХ (прил.1, табл. 1; рис. 13) в исследованных нами зооксантеллах, которые также, как и зооксантеллы коралла *A. valida*, принадлежат к родам *Durusdinium* и *Cladocopium*. Таким образом, уровень молекулярных видов ДГКХ с длинноцепочечными ПНЖК (22:6) в зооксантеллах, обитающих в альционии и зоантарии, был значительно ниже, чем в этих же видах зооксантелл, обитающих в рифообразующем коралле. Только в зооксантеллах зоантарии (ZP) обнаружили ДГКХ с остатком сверхдлинноцепочечной C₂₈ ПНЖК (18:0/28:7), ранее найденной в свободноживущих динофлагеллятах *Amphidinium carterae*, *Cystodinium* sp. и *P. aciculiferum* [155]. Очевидно, что профиль бетаиновых липидов зооксантелл (симбионтов) существенно модифицируется в зависимости от таксономического положения кораллового полипа (организма-хозяина).

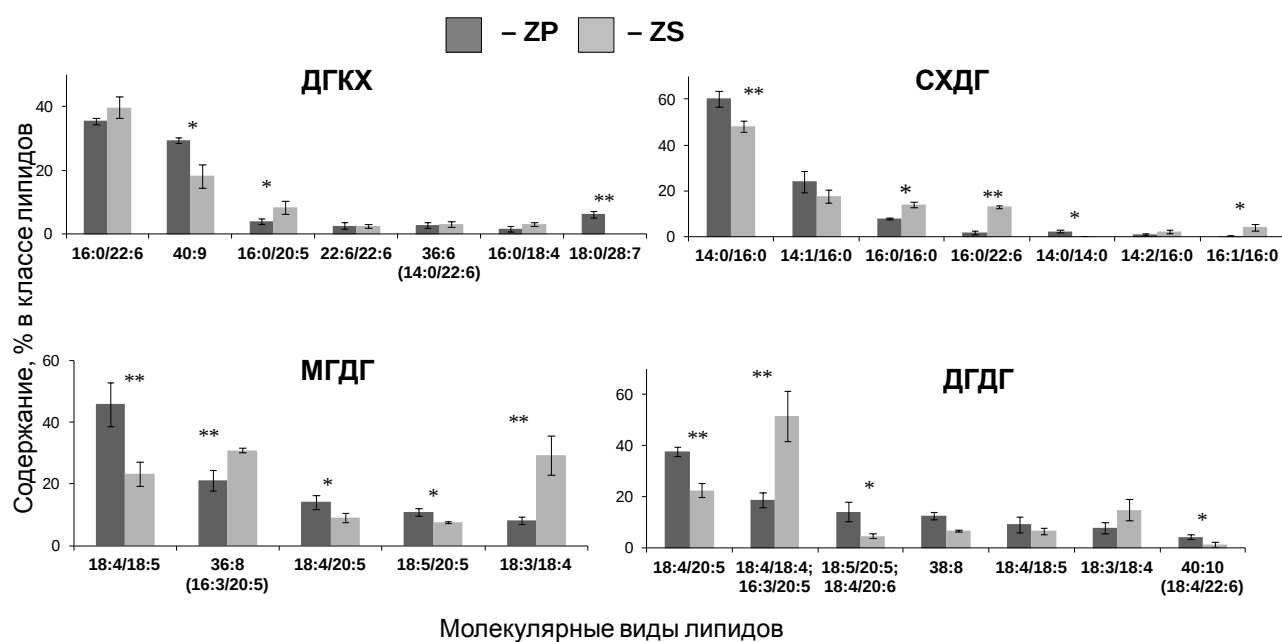


Рисунок 13 – Состав основных молекулярных видов (% от класса) диацилглицерилкарбоксигидрокси метилхолинов (ДГКХ), сульфохиновозилдиацилглицеролов (СХДГ), моно- и дигалактозилдиацилглицеролов (МГДГ и ДГДГ) в зооксантеллах, выделенных из альционии *S. heterospiculata* (ZS) и зоантарии *P. tuberculosa* (ZP)

Во фракциях ZP и ZS идентифицировали 21 молекулярный вид различных классов гликолипидов (МГДГ, ДГДГ и СХДГ). Содержание СХДГ+ДГДГ во фракции ZP ($10.42 \pm 1.23\%$), состоящей из смеси зооксантелл *Durusdinium* и *Cladocopium*, было выше (HSD test, $p < 0.05$), чем во фракции ZS ($6.83 \pm 0.20\%$), которая состояла только из зооксантелл *Cladocopium*. В то же время содержание МГДГ в ZP ($5.60 \pm 0.39\%$) было меньше (HSD test, $p < 0.05$), чем в ZS ($6.77 \pm 0.31\%$). Содержание высоко ненасыщенных молекул МГДГ было больше в ZP, чем ZS. Содержание 18:4/18:5 МГДГ было достоверно больше (HSD test, $p < 0.05$) в ZP по сравнению с ZS, а содержание более насыщенных молекулярных видов МГДГ (36:8 и 18:3/18:4) во фракции ZP было в несколько раз меньше, чем во фракции ZS (прил. 1, табл. 1; рис. 13). Содержание высоко ненасыщенных молекулярных видов ДГДГ (40:10, 38:10 и 38:9) было в несколько раз больше в ZP (HSD test, $p < 0.05$), тогда как содержание 36:8 ДГДГ было больше в ZS (HSD test, $p < 0.05$) (прил. 1, табл. 1; рис. 13). Очевидное сходство между ДГДГ и МГДГ в распределении молекулярных видов по степени ненасыщенности может быть обусловлено схемой биосинтеза ДГДГ, молекула которого образуется путем присоединения еще одной молекулы галактозы к молекуле МГДГ ферментом ДГДГ-синтазой [113].

ZP и ZS также имели существенные отличия в профиле молекулярных видов СХДГ (прил. 1, табл. 1; рис. 13). Липиды ZP содержали больший процент насыщенных молекулярных видов (14:0/16:0+16:0/16:0), чем ZS (HSD test, $p < 0.05$) (прил. 1, табл. 1; рис. 13), а липиды ZS – большее количество моно- и диеновых молекулярных видов СХДГ (HSD test, $p < 0.05$). Среди

липидов обеих фракций зооксантелл также был обнаружен СХДГ 16:0/22:6. Его количество в ZS было в несколько раз больше, чем в ZP (HSD test, $p < 0.05$).

На примере альционии и зоантарии мы показали, что липиды фракции зооксантелл, содержащие термоустойчивый вид *D. trenchii*, достоверно отличалась повышенным содержанием СХДГ и насыщенных молекулярных видов СХДГ, а также пониженным уровнем МГДГ и большим содержанием высоко ненасыщенных молекул МГДГ и ДГДГ. Такие же закономерности состава ГЛ, отличающие *Durusdinium* от *Cladocopium*, были недавно найдены для зооксантелл, выделенных из рифообразующего коралла [120]. Таким образом, особенности состава гликолипидов зооксантелл, связанные с их термоустойчивостью, сохраняются независимо от таксономического положения организма-хозяина.

Повышение температуры морской воды выше 32°C вызывает повреждение фотосинтетического аппарата зооксантелл кораллов и, как следствие, обесцвечивание и массовую гибель коралловых рифов. Различные виды симбиотических микроводорослей семейства Symbiodiniaceae отличаются по степени устойчивости к повышению температуры окружающей среды [156, 157]. Выяснению причин температурной устойчивости зооксантелл посвящены многие исследования. Установлено, что кораллы, которые содержат устойчивые к повышению температуры клады зооксантелл, более устойчивы к обесцвечиванию. Род *Durusdinium* является термически устойчивым симбионтом, тогда как *Cladocopium*, наоборот, более термически восприимчив [158]. Наша работа и другие исследования [26, 120] липидома зооксантелл указывают на важность состава и степени насыщенности различных классов гликолипидов в термоустойчивости этих симбионтов. Предполагается, что повышенное содержание бислойобразующего гликолипида ДГДГ является характерной чертой более термоустойчивых видов зооксантелл [120]. Этот класс гликолипидов вносит вклад в поддержание правильной структуры и тепловой устойчивости фотосистемы [113]. Повышенное содержание ДГДГ и более низкая степень ненасыщенности молекулярных видов СХДГ зооксантелл *Durusdinium* может быть одной из причин устойчивости симбиотического организма в целом к температурному стрессу.

Состав молекулярных видов неполярных липидов

В липидах фракций зооксантелл идентифицировали 22 молекулярных вида восков (X/Y, где X – алкил, Y – ацил). Несмотря на сходство, профили молекулярных видов восков ZP и ZS имели отличительные особенности (рис. 14, А). Доля насыщенных восков (14:0/14:0, 16:0/14:0, 16:0/16:0, 16:0/18:0, 18:0/16:0, 16:0/20:0, 18:0/18:0 и 16:0/22:0) в ZS была больше, чем в ZP ($p < 0.05$). Содержание ненасыщенных восков было вдвое больше в ZP, чем в ZS ($p < 0.05$). В восках зооксантелл присутствовали избарные молекулярные виды, в которых воски ZP содержали

остатки алифатического спирта 16:0, а воски ZS – спирта 18:0. Например, в восках ZP были обнаружены молекулярные виды 16:0/18:0, 16:0/20:0 и 16:0/22:0, в восках ZS – 18:0/16:0, 18:0/18:0 и 18:0/20:0. Таким образом, липиды зооксантелл из колоний *P. tuberculosa* и *S. heterospiculata* содержали различные наборы восков, которые отличались по химической структуре и степени ненасыщенности.

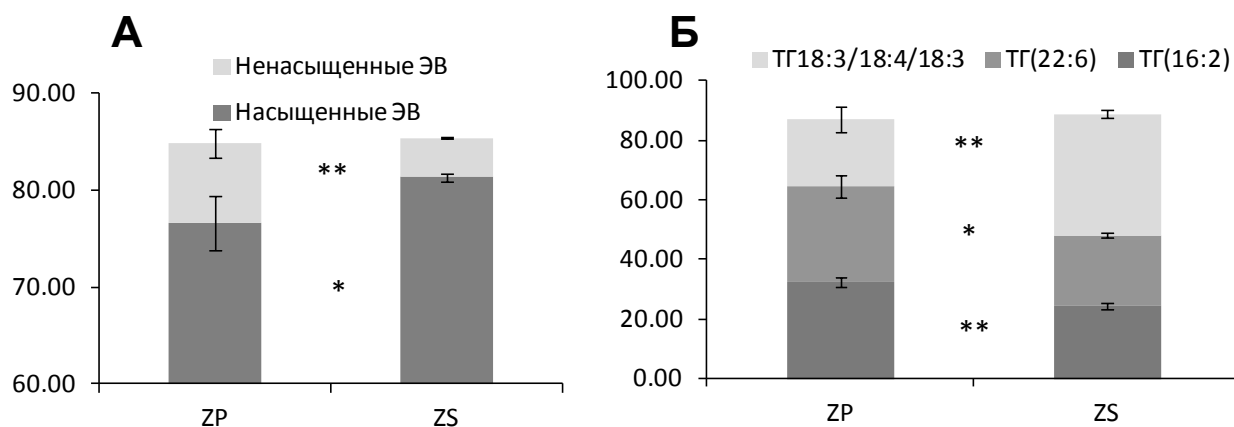


Рисунок 14 – (А) Состав (% от класса липида) молекулярных видов восков (ЭВ) и (Б) триацилглицеролов (ТГ) в зооксантеллах, выделенных из альционии *S. heterospiculata* (ZS) и зоантарии *P. tuberculosa* (ZP)

В липидах ZP и ZS обнаружили ТГ – важный класс резервных липидов. Многие работы по изучению липидов микроводорослей, в том числе зооксантелл, фокусируются лишь на мембранных липидах, оставляя без внимания ТГ, которые являются не только источником энергии, но могут использоваться организмом микроводорослей для синтеза структурных липидов. Были идентифицированы 13 молекулярных видов ТГ зооксантелл, которые можно поделить на две группы в зависимости от ЖК в *sn*-2 положении (Таблица 14). Основным молекулярным видом ТГ зооксантелл был 18:3/18:4/18:3 (40.71±1.26 в ZS и 22.35±4.16% в ZP от суммы ТГ). Остальные молекулярные виды ТГ в положении *sn*-2 содержали ацильную группу 16:0. Фракция ZP содержала больше, чем фракция ZS ($p < 0.01$), молекулярных видов ТГ с ацильными группами 16:2 (32.47±1.81 и 24.27±1.07%) и 22:6 (32.21±3.64 и 23.88±0.85% от суммы ТГ, соответственно) в положении *sn*-1(3) (Таблица 14).

Таблица 14 – Профиль молекулярных видов триацилглицеридов (% от суммы ТГ) зооксантелл, выделенных из *P. tuberculosa* (ZP) и *S. heterospiculata* (ZS)

Молекулярные виды	ZP	ZS
16:0/16:0/14:0	–	5.15±0.74
16:2/16:0/14:0	5.11±0.77	10.95±0.20
16:2/16:0/16:0	0.00±0.00	2.61±0.12
16:2/16:0/16:2	22.69±0.99	2.80±0.06

Продолжение таблицы 14

16:0/16:0/18:1	–	3.79±0.68
16:2/16:0/22:6	4.66±1.20	7.91±0.71
22:6/30:0	7.79±0.39	2.88±0.22
22:6/16:0/16:2;	–	2.98±0.23
22:6/32:1	9.23±0.29	5.09±0.12
22:6/16:0/16:0	4.96±0.95	2.30±0.51
22:6/16:0/18:0	5.57±1.39	2.71±0.54
18:3/18:4/18:3	22.35±4.16	40.71±1.26
Другие	17.64±0.29	10.10±2.95
Сумма ТГ с ЖК 16:2	32.47±1.81	24.27±1.07
Сумма ТГ с ЖК 22:6	32.21±3.64	23.88±0.85

ТГ являются основным резервным классом липидов симбионтов кораллов. Эукариотические клетки накапливают ТГ в форме липидных капель в цитоплазме. Биосинтез ТГ *de novo* происходит в эндоплазматическом ретикулуме из глицерол-3-фосфата последовательной этерификацией с помощью ацилтрансфераз [159]. ТГ биосинтетически тесно связаны со структурными липидами. У высших растений существует ацил-КоА независимый путь с участием фосфатидилхолина, как донора ацила [160]. ФХ:ацилтрансфераза (PDAT) может переносить ЖК из положения *sn*-2 ФХ в положение *sn*-3 диацилглицерида (ДАГ), образуя таким образом молекулу ТГ и ЛФХ [161]. Ген, кодирующий PDAT, был обнаружен у диатомеи *Phaeodactylum tricornutum*; было подтверждено его участие в синтезе ТГ [162]. Донором ацильной группы в синтезе ТГ могут выступать не только ФХ. Так, в условиях теплового стресса липидомный анализ *Chlamydomonas reinhardtii* показал одновременное снижение уровня полиненасыщенных структурных липидов МГДГ, БЛ и ФЭ, и увеличение уровня полиненасыщенных ТГ [163].

Растительные клетки также содержат пластоглобулы, маленькие липидные капли, которые ассоциированы с тилакоидными мембранами хлоропластов [164]. Они содержат ТГ и пигменты. Было показано, что ТГ могут синтезироваться не только в эндоплазматическом ретикулуме, но и непосредственно в хлоропластах [165]. В зеленых микроводорослях *Chlamydomonas reinhardtii* [166, 167] и *Dunaliella bardawil* [168] ТГ накапливаются в хлоропластах. Было установлено, что около 50% ТГ в пластоглобулах *D. bardawil* синтезируются из галактолипидов [168]. Вароканонт с коллегами также показали, что у *C. reinhardtii* при нарушении липидного транспорта в хлоропластах, происходит снижение биосинтеза ДГДГ. Для того чтобы клетка *C. reinhardtii* могла поддерживать правильное соотношение МГДГ/ДГДГ в тилакоидной мембране, часть МГДГ утилизируется переэтерификацией в ТГ. Это было подтверждено появлением ТГ с ПНЖК 16:4 и 18:3,

характерными для галактолипидов [169]. В исследуемой нами фракции зооксантелл из мягкого коралла *S. heterospiculata* (ZS) было замечено, что высокое содержание ТГ 18:3/18:4/18:3 коррелирует с высоким содержанием МГДГ 18:3/18:4 (прил. 1, табл. 1; рис. 13). Теоретически, ТГ 18:3/18:4/18:3 может синтезироваться из МГДГ 18:3/18:4 в пластидах.

Профиль ТГ зооксантелл из *P. tuberculosa* и *S. heterospiculata* существенно отличается от профиля ТГ свободноживущих микроводорослей. В составе ТГ зооксантелл присутствует изомер молекулярного вида 18:3/18:3/18:4, найденный ранее в *Thalassiosira pseudonana* и *P. tricornutum* [170], но отсутствуют молекулярные виды с остатками C₂₀ ПНЖК (20:4 и 20:5), которые были найдены в *P. tricornutum*, *T. suecica* и *N. oculata* [154]. ТГ из *Botryococcus braunii* содержат сверхдлинноцепочечные ЖК 28:1, 28:2, 30:1, 30:2 и 36:2 [171], а ТГ свободноживущих динофлагеллят *Amphidinium carterae*, *Cystodinium* sp. и *Peridinium aciculiferum* содержат C_{26–28} ПНЖК [155]. В наших образцах, в отличие от свободноживущих микроводорослей, C₂₀ ПНЖК и сверхдлинноцепочечные ЖК не были обнаружены в составе ТГ. Некоторые молекулярные виды ТГ зооксантелл, например, 22:6/16:0/16:0 и 16:2/16:0/16:2, повторяют молекулярные виды ТГ целых колоний кораллов *P. tuberculosa* и *S. heterospiculata* (табл. 14). Возможно, что данная группа ТГ передаётся от симбионтов к организму-хозяину коралла. Арахидоновая кислота (20:4n-6) является маркером организма-хозяина коралла, поэтому отсутствие 20:4 в молекулах ТГ зооксантелл может служить подтверждением чистоты фракции зооксантелл [11, 172]. Таким образом, состав ТГ динофлагеллят зависит от вида микроводорослей и, возможно, от таксономического положения организма-хозяина.

ТГ зооксантелл можно разделить в зависимости от природы ацильной группы в положении *sn*-2. Молекулярный вид ТГ 18:3/18:4/18:3 с ацильной группой 18:4 в положении *sn*-2, может синтезироваться из МГДГ и, соответственно, локализоваться в пластоглобулах симбионтов. Группа молекулярных видов ТГ с ацильной группой 16:0 в положении *sn*-2 могут формировать общий пул ТГ симбиотического организма и использоваться для покрытия энергетических потребностей организма-хозяина. Молекулярные виды ТГ 18:3/18:4/18:3 и 16:2/16:0/16:2, которые можно использовать, как маркеры зооксантелл, требуют повышенного внимания в дальнейших липидомных исследованиях симбиотических кораллов.

2.1.5 Сравнение липидомов коралловых полипов

Воски кораллов подклассов Octocorallia и Hexacorallia

Воски (ЭВ) являются важным классом липидов морских организмов и выполняют защитную, запасную, энергетическую и другие функции. Различные таксономические группы книдарий имеют разный состав ЭВ [83]. Данные о ЭВ книдарий фрагментарны; в основном, это

сведения о составе остатков ЖК и алифатических спиртов, входящих в состав восков, а также об основных компонентах ЭВ, чаще всего с указанием общего числа атомов углерода [3, 80]. Значительная часть опубликованных работ посвящена исследованию состава ЭВ актиний и гидрокораллов, информация о составе молекулярных видов ЭВ кораллов весьма ограничена. В актинии *Anemonia viridis* обнаружены ЭВ с чётным числом атомов углерода C_{30} – C_{36} с преобладанием ненасыщенных восков 32:1, 34:2, 34:1 и 36:1, при этом основным насыщенным ЭВ был 32:0 [124]. Отмечено, что ненасыщенные воски 34:1 и 36:1 имели несколько изомеров, но их структура не была определена. Актиния *Metridium senile* содержала насыщенные и ненасыщенные воски с чётным числом атомов углерода C_{26} – C_{42} ; преобладали насыщенные ЭВ 36:0 (30%), 34:0 (28%), 38:0 (13%), 30:0 (12%) и 32:0 (11%) [83]. В составе восков гидрокоралла *Millepora* sp. (класс Hydrozoa) обнаружены ЭВ 16:0/18:0 (64%), 16:0/16:0 (34%) и 16:0/14:0 (2%) [83]. Гидрокораллы *Millepora dichotoma* и *M. platyphylla* содержали ЭВ 30:0 (14:0/16:0 и 12:0/18:0), 32:0 (16:0/16:0), 34:0 (16:0/18:0 и 18:0/16:0), а также 36:0 (18:0/18:0) [145]. Среди восков представителей класса Anthozoa преобладал ЭВ 16:0/16:0, доля которого составляла 100, 80 и 73% от суммы восков в кораллах *Flavia* sp., *Goniastrea retiformis* и *Isophyllia* sp., соответственно [83]. Среди восков кораллов обнаружены ЭВ 16:0/18:0 и 16:0/14:0 (3–24%), а также следовые количества ЭВ 14:0/14:0 и 18:0/18:0 [83].

Мы сравнили состав восков девяти видов тропических кораллов. Они принадлежали к трём разным группам, которые различались наличием экзоскелета и симбионтов: группа AM – асимбиотические мягкие кораллы (*Mopsella spinosa*, *Menella flora* и *M. praelonga*); группа CP – симбиотические рифообразующие кораллы (*Acropora acuminate*, *A. cytherea* и *Turbinaria peltata*) и группа CM – симбиотические мягкие кораллы (*Cladiella laciniosa*, *Sinularia brassica* и *S. robusta*). В этих видах кораллов обнаружили 83 молекулярных вида ЭВ, которые содержали от 28 до 42 атомов углерода (прил. 2, табл. 1, 2). В алкильной и ацильной частях каждого молекулярного вида определили число атомов углерода и количество двойных связей. Используемый метод анализа не позволил установить положение двойных связей в алифатических цепях. Молекулы восков включали остатки насыщенных и ненасыщенных ЖК и алифатических спиртов с количеством атомов углерода от 14 до 24. Алкильные и ацильные группы содержали как чётное, так и нечётное число атомов углерода. Основными компонентами ЭВ были 16:0/16:0, 16:0/18:0, 16:0/18:1, 16:0/14:0 и 18:0/16:0 (число атомов углерода : число двойных связей в алкильной группе / число атомов углерода : число двойных связей в ацильной группе). Среди насыщенных ЭВ присутствовали изомеры, которые различались по количеству атомов углерода в ацильной и алкильной частях молекулы. Мононенасыщенные ЭВ содержали изомеры положения двойной связи в остатке ЖК, а также изомеры распределения двойных связей между остатками ЖК и алифатического спирта.

Между отдельными видами кораллов наблюдался большой разброс в содержании индивидуальных молекулярных видов ЭВ, а также в пропорциях между их изомерами (прил. 2, табл. 1, 2). Количество насыщенных 30:0 и 32:0 молекулярных видов ЭВ в двух группах симбиотических кораллов (СР и СМ) было достоверно больше (t -test, $p < 0.05$), чем в асимбиотических кораллах (АМ), которые отличались высоким уровнем длинноцепочечных восков (количество атомов углерода от 35 до 42) и восков с нечётным числом атомов углерода (ЭВ 31:0, 33:0, 35:0, 37:0, 39:0 и 41:0) (рис. 15).

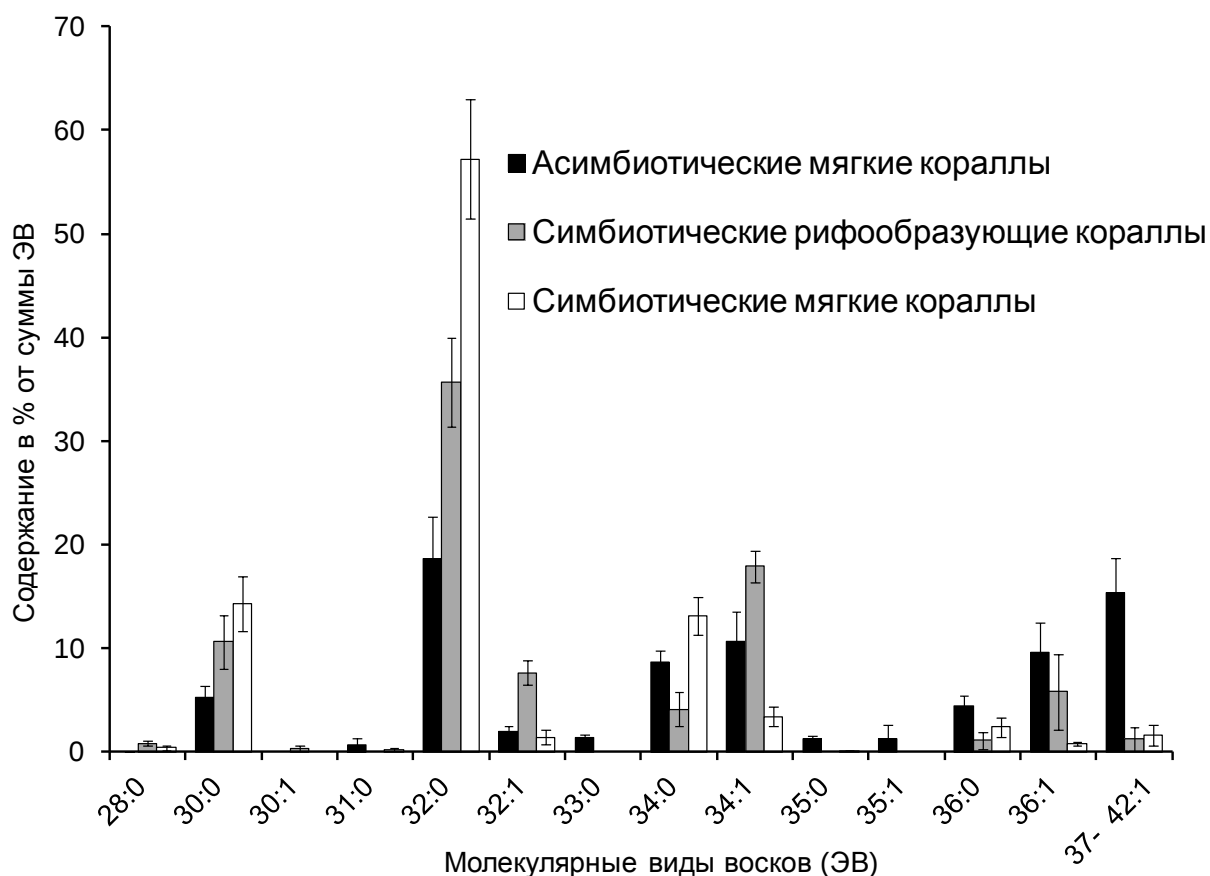


Рисунок 15 – Состав (% от суммы) основных молекулярных видов восков (количество атомов углерода : число двойных связей) в различных группах кораллов

Анализ методом главных компонент показал различие в составе восков между группами СМ, СР и АМ; асимбиотические виды кораллов заметно различались между собой (рис. 16). Первая и вторая главные компоненты (ГК1 и ГК2) вместе объединили 95% всех вариаций. Разделение групп СМ и СР по оси ГК1 вызвано прежде всего разным содержанием ненасыщенных восков с чётным числом атомов углерода. Разделение симбиотических и асимбиотических видов по оси ГК2 в большей степени обусловлено отрицательным влиянием переменных, суммирующих долю насыщенных и ненасыщенные молекулярных видов с нечётным числом атомов углерода.

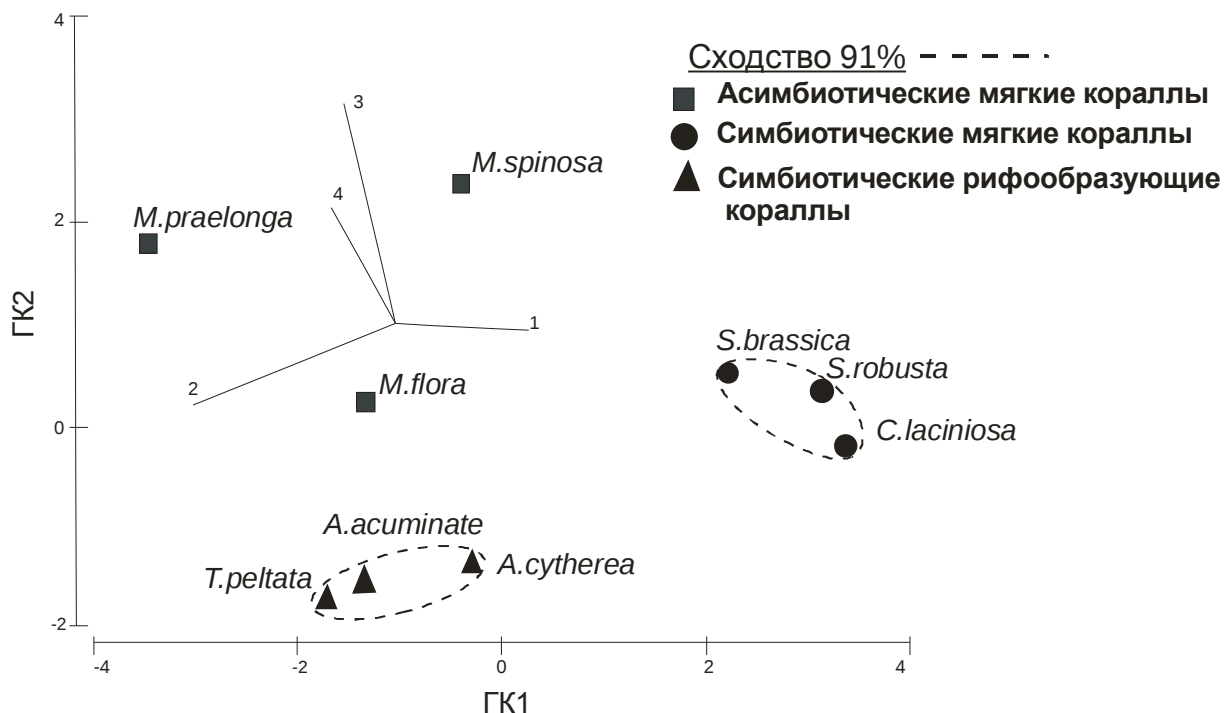


Рисунок 16 – Анализ по методу главных компонент данных по составу молекулярных видов восков различных групп кораллов. Анализ проведен по четырем переменным: 1 – общее содержание насыщенных восков с четным числом атомов углерода; 2 – общее содержание ненасыщенных восков с четным числом атомов углерода; 3 – общее содержание насыщенных восков с нечетным числом атомов углерода; 4 – общее содержание ненасыщенных восков с нечетным числом атомов углерода

Наше исследование подтвердило, что главными компонентами восков кораллов являются цетилпальмитат (16:0/16:0) и некоторые другие насыщенные ЭВ, содержащие 30, 34 и 36 атомов углерода. Молекулы этих сложных эфиров состояли в основном из комбинации остатков двух алифатических спиртов (16:0, 18:0) и четырёх жирных кислот (14:0, 16:0, 18:0, 20:0). Установлено, что общий профиль молекулярных видов ЭВ исследованных кораллов в значительной степени зависит от их таксономического положения и наличия зооксантелл. Доля молекулярных видов 16:0/16:1, 16:0/18:1 и 16:0/20:1 в восках рифообразующих кораллов достоверно больше (t-test, $p < 0.05$), чем в восках симбиотических альционарий. Вероятно, это связано с тем, что уровень мононенасыщенных ЖК в рифообразующих кораллах выше, чем в мягких кораллах.

В липидах чистых зооксантелл, выделенных из кораллов, присутствует лишь незначительное количество восков [111]. В сухой массе зооксантелл из актинии *A. viridis* содержалось всего 0.33% восков, а их состав был гораздо проще, чем восков из тканей самой актинии [124]. Зооксантеллы активно участвуют в суточной динамике уровня восков в некоторых видах симбиотических кораллов. В липидных тельцах, которые располагаются в клетках коралла [111, 173] и служат местом аккумуляции нейтральных липидов, наблюдали циклическое суточное изменение уровня восков, которое определялось наличием или отсутствием освещения [90].

Известно, что зооксантеллы выделяют низкомолекулярные вещества, включая глицерин, органические кислоты, глюкозу и аминокислоты, которые передаются в ткани коралла [174]. Фотосинтетически фиксируемый зооксантеллами углерод используется для синтеза ЖК, которые затем передаются организму-хозяину [80]. Меерс [175] считал, что кораллы получают от зооксантелл в основном производные насыщенных ЖК. В процессе биосинтеза восков ЖК используются в форме ацил-КоА. Алифатические спирты получают превращением ацил-КоА в соответствующий спирт при действии оксидоредуктазы [176]. Таким образом, остатки алифатических спиртов и ЖК, входящие молекулы ЭВ, биосинтетически связаны и могут иметь сходную степень ненасыщенности. Мы полагаем, что зооксантеллы могут модулировать их уровень в кораллах и увеличивать долю насыщенных молекулярных видов восков, передавая организму-хозяину насыщенные ЖК.

При изучении ЭВ девяти видов кораллов, принадлежащих к трём разным группам, которые различались наличием экзоскелета и симбионтов, было показано, что доля мононенасыщенных ЭВ у альционарий меньше, чем у рифообразующих кораллах, а доля ЭВ с нечетным числом атомов углерода больше у асимбиотических видов кораллов (прил. 2, табл. 1,2).

В исследованных нами асимбиотических видах кораллов найдено большое разнообразие молекулярных видов восков, содержащих остатки алифатических спиртов и ЖК с нечётным числом атомов углерода. Источником таких ЖК могут быть бактерии [152]. Во многих морских беспозвоночных животных присутствует устойчивое бактериальное сообщество, и кораллы в этом аспекте не являются исключением [177, 178]. Липиды кораллов без зооксантелл содержат достоверно больше «бактериальных» ЖК, чем липиды симбиотических кораллов [98]. На этом основании ранее был сделан вывод о наличии более развитого бактериального сообщества в кораллах без зооксантелл. Высказано предположение, что ассоциированные бактерии могут быть частичной «заменой» фотосинтетических симбиотических микроводорослей, как источника органического углерода в асимбиотических видах кораллов [98, 179]. Обнаружение в асимбиотических видах кораллов восков с нечетным числом атомов углерода подтверждает нашу гипотезу о важности микробного сообщества в поддержании энергетического баланса кораллов, не имеющих симбиотических микроводорослей. Воски, содержащие остатки 15:0, 17:0 и 19:0 ЖК и спиртов, могут продуцироваться самими бактериями. Наличие остатков 21:0 и 23:0 в молекулах ЭВ асимбиотических видов кораллов указывает на возможность элонгации ЖК бактериального происхождения в тканях самого коралла с дальнейшим использованием этих ЖК для биосинтеза собственных восков.

Липидом коралловых полипов и их симбионтов

В данной работе впервые был расшифрован липидом некоторых представителей симбиотических кораллов различных подклассов: рифообразующего коралла *A. cerealis* и зоантарии *P. tuberculosa* (подкласс Hexacorallia), мягких кораллов *S. siaesensis* и *S. heterospiculata* (подкласс Octocorallia), а также зооксантелл, выделенных из *S. heterospiculata* и *P. tuberculosa*.

Липидомы этих видов морских беспозвоночных животных в целом были схожи между собой, но при этом каждый вид имел свои характерные черты, как в содержании отдельных классов липидов, так и в профиле молекулярных видов. Липиды всех исследованных коралловых полипов включали воски, ТГ и МАДАГ. Содержание фосфолипидов у представителя шестилучевых кораллов превышало 30%, а у восьмилучевых кораллов было не больше 13%. ФЛ всех исследованных видов включали ФХ, ФЭ, ФС, которые были основными классами полярных липидов, а также ФИ, ЦАЭФ и ЛФХ. Содержание ЦАЭФ было в несколько раз больше у акропоры, представителя рифообразующих шестилучевых кораллов. Если сравнивать липиды зооксантелл и организмов, из которых они были выделены, то можно сказать, что МАДАГ и ЦАЭФ являются маркерами тканей организма-хозяина, а бетаиновые липиды (ДГКХ) и гликолипиды (МГДГ, ДГДГ и СХДГ) характеризуют фотосинтезирующие симбионты. Липидомный подход позволяет рассмотреть различия между исследуемыми видами не только на уровне классов липидов, но и на уровне индивидуальных молекул липидов.

По профилю ТГ зоантария отличалась как от акропоры, так и от синулярий. Только в зоантарии присутствовали ТГ, содержащие ПНЖК 22:5, такие как 22:5/16:0/16:0 и 22:5/16:0/18:0, а также относительно большое количество МАДАГ с арахидоновой кислотой. В липидах зоантарии и синулярий основными ТГ были насыщенные молекулярные виды 16:0/16:0/16:0 и 16:0/16:0/18:0. В то же время, ТГ акропоры включали большой процент молекулярных видов с ЖК маркерами динофлагеллят 18:3 и 22:6, например, 18:3/16:0/16:0 и 22:6/16:0/16:0.

Были установлены существенные различия в профиле молекулярных видов ТГ между целыми колониями коралловых полипов и зооксантеллами, которые выделили из этих животных. В неполярном липидоме зооксантелл обнаружено два типа ТГ, которые отличались заместителем в положении *sn*-2. Основным молекулярным видом ТГ зооксантелл был 18:3/18:4/18:3, который ранее не удалось обнаружить в ТГ целых колоний *P. tuberculosa* и *S. heterospiculata*, поскольку ТГ – минорные компоненты (2–5%) липидов зооксантелл, которые составляют около 10% от липидов целой колонии. В *sn*-2 положении молекулярный вид 18:3/18:4/18:3 содержит ПНЖК, тогда как практически у всех молекулярных видов ТГ целых

колоний ПНЖК находятся в положении $sn-1/sn-3$. В зооксантеллах сходство состава ацильных групп в положениях $sn-2$ и $sn-3$ между ТГ 18:3/18:3/18:4 и молекулами МГДГ позволяет предположить, что именно этот основной молекулярный вид ТГ синтезируется из МГДГ. Состав другой группы молекулярных видов ТГ зооксантелл, которые содержали 16:0 в положении $sn-2$, был близок к составу ТГ, обнаруженных в целых колониях исследованных коралловых полипов. Можно предположить, что эта группа ТГ зооксантелл участвует в формировании резервной части общего липидома коралловых полипов.

Ранее было проведено сравнение состава ЖК и молекулярных форм (алкилацильные и диацильные липиды) четырёх классов фосфолипидов (ФЭ, ФХ, ФС и ФИ) для некоторых альционарий и гидрокораллов из тропических и холодноводных районов западного побережья Тихого океана [139]. Были получены сведения о составе ФХ рифообразующего коралла *Seriatopora caliendrum* [79, 87-89]. В нашей работе для аквариумного вида альционарии, рифообразующего коралла и зоантарии из тропической зоны определили профили молекулярных видов каждого класса фосфолипидов, которые заметно различались как по составу ЖК, так и по молекулярной форме.

Основные молекулярные виды ФЭ всех видов мягких и рифообразующих кораллов, зоантарии, а также холодноводных гидрокораллов содержали арахидоновую кислоту и имели алкилацильную форму, например, ФЭ 18:1alk/20:4, 16:1alk/20:4, 18:0alk/20:4 и 20:1alk/20:4. В отличие от ЖК шестилучевых кораллов, ЖК восьмилучевых кораллов и зоантарий содержали C_{24} ЖК [8, 105], поэтому отличительной чертой ФЭ мягких кораллов было наличие небольшого количества молекулярных видов с ТПЖК (18:1alk/24:5 и 18:0alk/24:5), а зоантарии – с C_{24} неметиленразделёнными ЖК (18:1alk/24:3).

Основные молекулярные виды ФХ в мягких и рифообразующих кораллах находились в алкилацильной форме, тогда как в тропической зоантарии и в холодноводном гидрокоралле *Allopora steinegeri* на долю диацильных молекулярных видов пришлось 41 и 45% от суммы ФХ, соответственно [139]. Акропора и зоантария содержали большое количество молекулярных видов ФХ, в состав которых входили как C_{20} , так и C_{22} ПНЖК. В синулярии практически все молекулярные виды ФХ в положении $sn-2$ содержали C_{20} ПНЖК (20:4 и 20:5), что указывает на существенную разницу в путях биосинтеза ФХ в шестилучевых и восьмилучевых кораллах. Резкое различие состава неполярных частей молекул ФХ и ФЭ указывает на отсутствие в коралловых полипах биосинтеза ФХ путем модификации полярной части молекулы ФЭ, которая известна для высших животных [180].

Ранее было установлено, что липиды тепловодных гидрокораллов (*Millepora*) отличались очень низким содержанием 20:4n-6 и 20:5n-3 из-за активной работы C_2 элонгазы и $\Delta 4$

десатуразы, которые используют эти ПНЖК для синтеза 22:5n-6 и 22:6n-3, поэтому C₂₂ ПНЖК были основными ацильными группами ФЭ и ФХ в *Millepora* [139].

Молекулярные виды ФС тропических мягких кораллов находились в алкилацильной форме, а у тропического рифообразующего коралла, равно как у тропических и холодноводных гидрокораллов [139], идентифицировали только диацильные формы ФС. Тропическая зоантария и холодноводные альционии [78] заняли «промежуточное положение» и содержали как диацильные, так и алкилацильные молекулярные виды ФС. В молекулярных видах ФС гидрокораллов *Millepora* были найдены ацильные группы 22:4 и 22:5, т.е. ПНЖК с максимально возможной длиной углеводородной цепи для данной группы книдарий [139]. Известно, что ТПЖК являются хемотаксономическим маркером мягких кораллов [8, 94] и концентрируются в молекулярных видах ФС этой группы кораллов. ТПЖК входили в состав основных молекулярных видов ФС мягких кораллов *Xenia* и *Gersemia* [76, 78]. У исследованных нами синулярий основными молекулярными видами ФС были 18:0alk/24:5 и 18:0alk/24:6 (прил. 1, табл. 1). В зоантарии *P. tuberculosa* самыми длинноцепочечными ЖК были 24:2, 24:3 и 24:4 (прил. 1, табл. 1), которые также в больших количествах сосредоточены в алкилацильных молекулярных видах ФС, но при этом основным диацильным молекулярным видом являлся ФС 18:0/22:4. Таким образом, ФС исследованных видов коралловых полипов состоит, в основном, из молекулярных видов, содержащих ПНЖК с максимально возможной длиной углеродной цепи для данного вида книдарий: рифообразующие кораллы и гидрокораллы – C₂₂ ПНЖК в составе диацильных ФС, а мягкие кораллы и зоантарии – C₂₄ ПНЖК в составе алкилацильных ФС, при этом липиды зоантарии содержат также диацильные ФС с C₂₂ ПНЖК (прил. 1, табл. 1).

Профили молекулярных видов ФИ акропоры и зоантарии были очень похожи (прил. 1, табл. 1), но в ФИ зоантарии доля диацильных молекулярных видов (88.99±0.45%) была меньше, чем в ФИ акропоры. В гидрокораллах *Millepora platyphylla* и *M. dichotoma* основные диацильные молекулярные виды ФИ были те же, но при этом больше половины составляли алкилацильные молекулярные виды (18:0alk/17:1, 16:0alk/22:5 и 18:0alk/22:5) [139]. В исследованных нами двух видах синулярий, *S. siaesensis* и *S. heterospiculata*, которые способны синтезировать ТПЖК, основными ФИ были 18:0/24:5 и 18:0/22:4 (прил. 1, табл. 1), которые ранее идентифицировали в мягких кораллах *Xenia* и *Gersemia* [76, 78].

ЦАЭФ является типичным классом фосфоносфинголипидов морских беспозвоночных [181]. Наличие С-Р связи в аминоэтилфосфонатной полярной части молекулы определяет устойчивость ЦАЭФ к гидролитическим ферментам [182]. Роль ЦАЭФ в формировании симбиотического сообщества до конца не ясна; возможно, устойчивость ЦАЭФ к гидролизу помогает поддерживать целостность клеток зооксантелл, когда те поглощаются гастродермальными клетками организма-хозяина и образуется мембрана симбиосомы [75].

Исследованные нами виды коралловых полипов различались не только по содержанию ЦАЭФ, но и по профилю молекулярных видов этого фосфолипида. У мягких кораллов обнаружили 3 молекулярных вида ЦАЭФ с пальмитиновой кислотой в ацильной части и 18 атомами углеродов в сфингозиновом основании, при этом основным был ЦАЭФ 18:2b/16:0, так же как в гидрокораллах *Millepora dichotoma* и *M. platyphylla* [139]. Молекулярный вид ЦАЭФ с остатком гидрокси-кислоты (18:2b/16:0-ОН) составил 6.2 и 17.4% от суммы ЦАЭФ мягких кораллов *S. siaesensis* и *S. heterospiculata*, соответственно. У рифообразующего коралла также были обнаружены в большом количестве молекулярные виды ЦАЭФ с гидроксильными группами как в ацильной части молекулы, так и в сфингозиновом основании, например, 18:2bОН/16:0 и 18:3ОНb/16:0ОН являлись основными и составили более 50% от суммы ЦАЭФ (прил. 1, табл. 1). В мягких и рифообразующих кораллах *N*-метил производное ЦАЭФ, церамидметиламиноэтилфосфонат (ЦМАЭФ), не обнаружили, в отличие от зоантарии, где такие молекулярные виды (ЦМАЭФ 18:2b/16:0, 18:2b/16:0-ОН и 19:2b/16:0) составили более 60% от суммы фосфолипидов (прил. 1, табл. 1).

2.2 Экспериментальное обесцвечивание альционии *Sinularia heterospiculata* под действием теплового стресса

2.2.1 Анализ динамики липидома при обесцвечивании

2.2.1.1 Динамика состава липидов коралла под действием теплового стресса

Чтобы определить роль липидов в процессе обесцвечивания кораллов, экспериментальные колонии альционии *S. heterospiculata* в течение 36 часов подвергали тепловому стрессу (33°C), контрольные колонии содержали при естественной температуре обитания (27°C) и каждые 12 часов анализировали состав общих липидов и молекулярных видов каждого класса липидов в экспериментальных и контрольных образцах. Общие липиды *S. heterospiculata* включали запасные липиды, гликолипиды и фосфорсодержащие липиды. Основными запасными липидами были ТГ, ЭВ и МАДАГ, а среди гликолипидов обнаружили МГДГ, ДГДГ и СХДГ. Количество ДГДГ и СХДГ определяли в сумме из-за неполного разделения при анализе ТСХ. Среди фосфорсодержащих липидов присутствовали ФХ, ФЭ, ФИ, ФС, ЦАЭФ и ЛФХ. Лизо- и окисленные производные этаноламинглицерофосфолипидов (ЛФЭ и окФЭ) были обнаружены только в экспериментальных колониях на 36-й час эксперимента (прил. 3, табл. 1).

Запасные липиды

В мягких кораллах доля нейтральных липидов может достигать 70% от общих липидов

[71]. Нейтральные липиды являются запасными соединениями, которые кораллы накапливают и, таким образом, запасают энергию. Известно, что в процессе обесцвечивания и последующего длительного восстановления рифообразующие и мягкие кораллы восполняют дополнительную потребность в энергии за счет использования запасных классов липидов, но динамика содержания классов липидов и их молекулярных видов на ранней стадии обесцвечивания все еще не ясна. Воски – основной класс запасных липидов кораллов рода *Sinularia* [123]. МАДАГ образуется в тканях организма-хозяина, тогда как воски и ТГ найдены и в зооксантеллах, и в тканях полипов *Sinularia* sp. [123].

В условиях теплового стресса уровни ТГ и МАДАГ зависели от времени (прил. 3, табл. 1). Через 36 часов содержание ТГ и МАДАГ в экспериментальных колониях снизилось вдвое по сравнению с контрольными образцами (HSD test, $p < 0.05$) (Все значения на рисунках 17–25 приведены как среднее $\pm$ SD, $n = 3$) (рис. 17, А). Хотя абсолютное среднее значение уровня восков (основного запасного класса липидов *S. heterospiculata*) в экспериментальных колониях увеличилось на 25%, статистически достоверной разницы между началом и концом эксперимента не обнаружили, поэтому общее содержание запасных липидов (ТГ+МАДАГ+ЭВ) во всех исследуемых образцах достоверно не изменилось (прил. 3, табл. 1). Уровень общих ФЛ также не менялся во всех исследуемых образцах (рис. 17, Б).

Среди восков преобладали насыщенные (16:0/16:0 и 18:0/16:0) и диеновые (16:2/16:0, 16:0/16:2, 18:0/16:2, 16:0/18:2, 18:0/18:2, 16:2/20:0 и 18:0/18:2) молекулярные виды (прил. 3, табл. 3). В отличие от молекулярных видов восков C_{30-32} , суммарное содержание молекулярных видов C_{34-36} (с более длинноцепочечными ЖК и спиртами) зависело от времени и перекрестного влияния температуры и времени (прил. 3, табл. 1). Содержание молекулярных видов восков 34:0, 34:2 и 36:2 в экспериментальных колониях повысилось на 5–23% после 24-х часов теплового воздействия (HSD test, $p < 0.05$) (рис. 17, В).

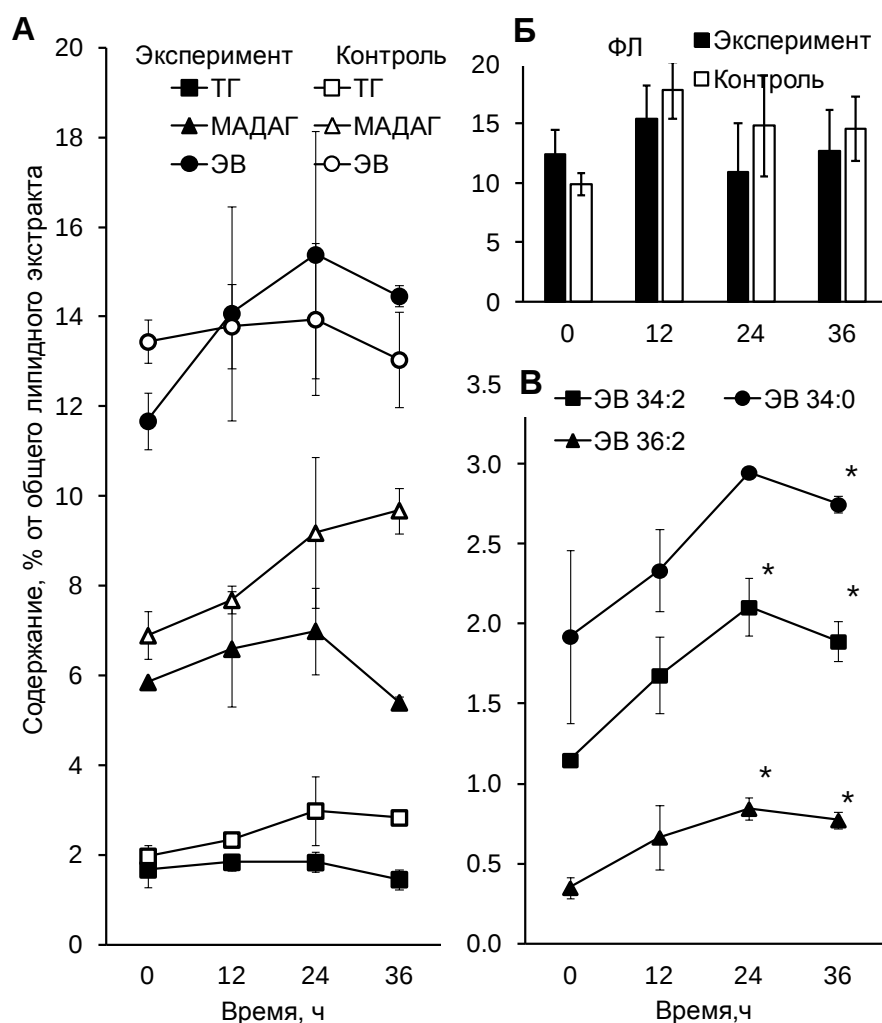


Рисунок 17 – Изменение содержания (% от липидного экстракта) (А) ЭВ, МАДАГ и ТГ, (Б) фосфорсодержащих липидов (ФЛ) в экспериментальных (33°C, чёрные фигуры и столбцы) и контрольных (27°C, белые фигуры и столбцы) колониях *S. heterospiculata*. Изменение содержания (% от общих липидов) (В) молекулярных видов ЭВ 34:0, 34:2 и 36:2 в экспериментальных (33°C) колониях мягкого коралла *S. heterospiculata*. Звездочкой отмечены точки, в которых значения достоверно отличаются от значений в 0-й точке (HSD test, $p < 0.05$)

Четыре молекулярных вида ТГ (16:2/16:0/16:0, 18:2/16:0/16:0, 16:0/16:0/16:0 и молекулярный вид ТГ с m/z 813.8), также пять молекулярных видов МАДАГ (18:0alk/16:2/16:0, 16:0alk/16:0/16:0, 18:0alk/20:4/16:0, 18:0alk/18:2/16:0, 18:0alk/16:0/16:0 и 16:0alk/16:0/18:0), составили 60% от суммы ТГ и МАДАГ (прил. 3, табл. 3). На содержание этих молекулярных видов ТГ и МАДАГ влияли факторы температуры и времени теплового воздействия (прил. 3, табл. 1). В контрольных колониях содержание молекулярных видов МАДАГ все время повышалось, а содержание молекулярных видов ТГ повышалось в течение 24-х часов, а затем на 36-й час снижалось (HSD test, $p < 0.05$) (рис. 18). К концу эксперимента общие липиды *S. heterospiculata* показали снижение на 60–75% уровня тех же молекулярных видов ТГ и МАДАГ в сравнении со значениями контрольных колоний (HSD test, $p < 0.05$) (рис. 18).

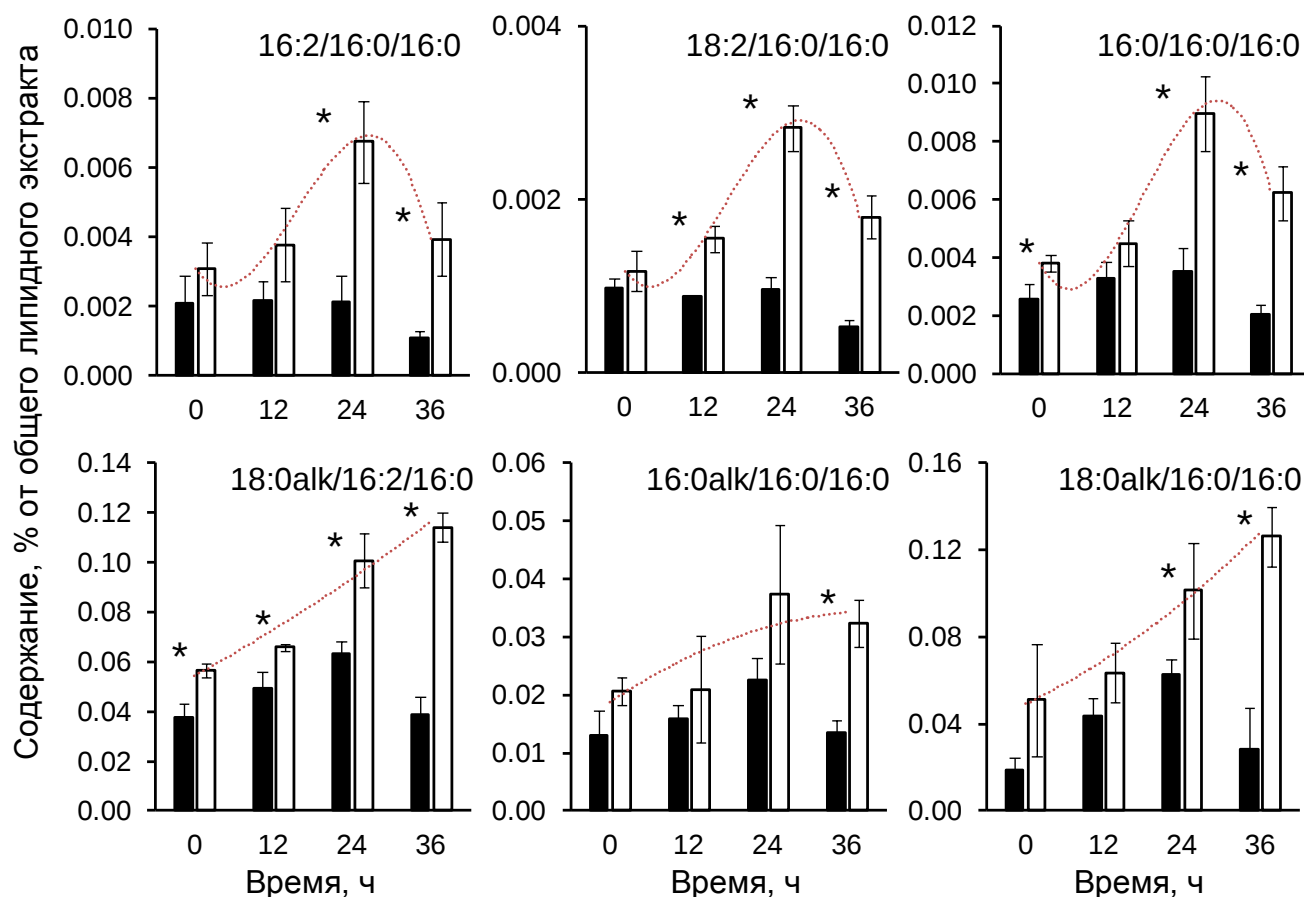


Рисунок 18 – Изменение содержания (% от общих липидов) трех основных молекулярных видов ТГ (16:2/16:0/16:0, 18:2/16:0/16:0, 16:0/16:0/16:0) и трех основных молекулярных видов МАДАГ (18:0alk/16:2/16:0, 16:0alk/16:0/16:0, 18:0alk/16:0/16:0) в экспериментальных (33°C, чёрные столбцы) и контрольных (27°C, белые столбцы) колониях *S. heterospiculata*. Звездочкой отмечены точки, в которых значения достоверно отличаются от контроля (HSD test, $p < 0.05$). Линии тренда (пунктирные) проведены для контрольных колоний

Таким образом, обнаружены значительные различия в динамике разных классов запасных липидов на ранней стадии обесцвечивания *S. heterospiculata*. Ожидаемое снижения уровней МАДАГ и ТГ в колониях альционарий под действием температурного стресса сопровождалось необычным повышением содержания нескольких молекулярных видов восков с ацильной группой 16:2. Наша гипотеза об увеличении синтеза 16:2n-7 в тканях коралла в условиях стресса может объяснить накопление таких молекулярных видов ЭВ на ранней стадии обесцвечивания кораллов. Уменьшение процента ТГ и увеличение процента ЭВ в общих липидах твердого коралла *Montipora digitata* и мягкого коралла *Sinularia capitalis* были ранее зарегистрированы во время 48-часового экспериментального теплового стресса (33°C) [12]. Напротив, для нескольких видов твердых кораллов после длительного периода обесцвечивания было зарегистрировано резкое снижение доли как восков, так и ТГ [130, 183]. Повышенный уровень восков у некоторых видов кораллов способствовал их термической устойчивости во время обесцвечивания в естественной среде обитания [184]. Таким образом, в отличие от ТГ и МАДАГ, воски следует рассматривать, как запасный класс липидов кораллов, который может

накапливаться при кратковременном тепловом стрессе и расходоваться во время длительного процесса восстановления коралла после частичного обесцвечивания.

Структурные липиды

Организм-хозяин симбиотических мягких кораллов играет важную роль в механизмах термического стресса и термоустойчивости колонии в целом [185, 186]. Зооксантеллы находятся внутри клеток организма-хозяина и окружены мембраной клетки полипа, образуя симбиосомы [23]. Обесцвечивание кораллов сопровождается потерей симбиосом, необратимыми повреждениями структуры симбиосомных мембран [25] и фотоокислительными повреждениями липидов [187]. Следовательно, обесцвечивание может влиять на фосфолипиды кораллов, которые являются структурной основой мембран клеток коралла.

Ранее было показано, что характер изменения уровня общих ФЛ при обесцвечивании кораллов в экспериментальных условиях сильно зависит от таксономического положения организма-хозяина [12, 130]. В течение 48 часов теплового воздействия уровень ФЛ в общих липидах рифообразующего коралла *A. intermedia* резко снижался, а в общих липидах альционии *S. capitqlis* оставался стабильным. [12]. Одной из причин снижения уровня ФЛ в липидах термочувствительного вида *A. intermedia* может быть масштабная потеря симбиосом и их мембранных липидов. Липидомный подход, который мы применили к изучению динамики ФЛ на ранней стадии обесцвечивания, выявил, что на фоне стабильного уровня общих ФЛ происходят значительные изменения в составе классов и молекулярных видов ФЛ альционии. Во внимание были приняты основные фосфорсодержащие классы липидов кораллов (ФХ, ФЭ, ФС, ФИ, ЦАЭФ, ЛФХ и ЛФЭ) [71, 83].

Несмотря на стабильность общего содержания ФЛ (рис. 17, Б), в экспериментальных колониях было замечено существенное снижение концентраций ФХ, ФЭ, ФИ после 36-ти часов теплового воздействия (HSD test, $p < 0.05$) (прил. 3, табл. 1; рис. 19, А). Пропорция ЦАЭФ в экспериментальных колониях повысилась вдвое относительно контрольных образцов после 24-х часов эксперимента (HSD test, $p < 0.05$). Факторы температуры и времени не влияли на уровень ФС и ЛФХ. После 36 часов в ФЛ экспериментальных колоний обнаружили 23.9% окФЭ и 2.8% ЛФЭ (рис. 19, А). В контрольных колониях достоверных изменений в содержании отдельных классов ФЛ обнаружено не было (HSD test, $p > 0.05$) (рис. 19, Б).

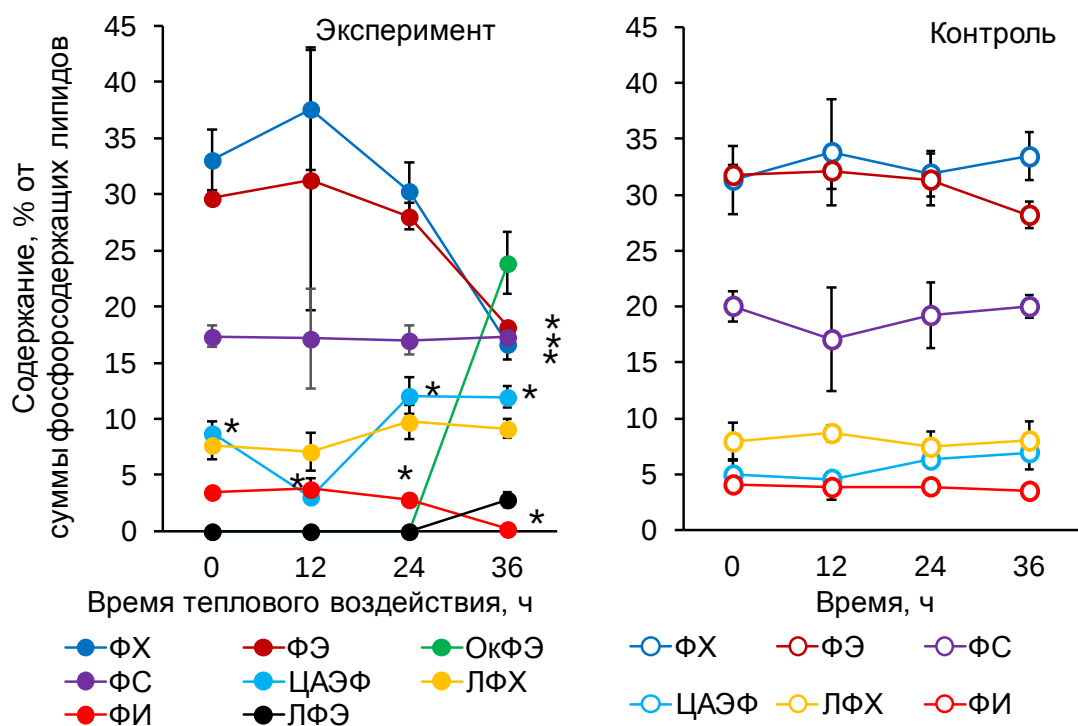


Рисунок 19 – Динамика изменений содержания (% от ФЛ) холин-, этаноламин-, серин- и инозитглицерофосфолипидов (ФХ, ФЭ, ФС и ФИ), лизо-ФЭ (ЛФЭ), лизо-ФХ (ЛФХ), церамидаминоэтилфосфоната (ЦАЭФ) и окисленного ФЭ (окФЭ) (% от ФЛ) в экспериментальных (33°C) и контрольных (27°C) колониях *S. heterospiculata*. Звездочкой отмечены точки, в которых значения достоверно отличаются от контроля (HSD test, $p < 0.05$)

Основными молекулярными видами ЦАЭФ были 18:2b/16:0 (53.8%), 18:2b/16:0-ОН (22.1%), 18:1b/16:0 (12.7%), и 18:0b/16:0 (5.6%) (прил. 3, табл. 3). Существенного влияния факторов температуры и времени на эти молекулярные виды ЦАЭФ не было замечено. Фосфолипид ЦАЭФ содержит связь Р-С, которая устойчива к действию гидролитических ферментов, таких как фосфолипаза и фосфатаза, и его насыщенные алифатические группы стабильны в окислительных условиях. [181]. Эти особенности химической структуры могут объяснить стабильность ЦАЭФ на ранней стадии обесцвечивания *S. heterospiculata*.

Во всех колониях около 90% от суммы ФС составил молекулярный вид 18:0alk/24:5, при этом обнаружили несколько молекулярных видов окисленного ФС (окФС) с общими брутто-формулами $C_nH_mNO_{10}P$ и $C_nH_mNO_{12}P$ (прил. 3, табл. 3). Среднее содержание ФС в общих липидах контрольных и экспериментальных колоний составило 2.71 ± 0.83 и $2.24 \pm 0.76\%$, а содержание окФС – 0.13 ± 0.09 и $0.16 \pm 0.11\%$, соответственно. Содержание трех молекулярных видов окФС ($C_{37}H_{74}NO_{10}P$, $C_{44}H_{82}NO_{12}P$, and $C_{45}H_{82}NO_{12}P$) в общих липидах всех колоний на протяжении 24-х часов достоверно не менялось, а на 36-й час немного возрастало (HSD test, $p < 0.05$).

Среди фосфолипидов мягких кораллов, молекулярные виды ФС отличаются очень высоким содержанием сверхдлинноцепочечных ТПЖК, что указывает на особую роль ФС в формировании мембран клеток этого класса морских беспозвоночных животных [77, 139]. В

клетках наземных млекопитающих молекулы ФС асимметрично распределены по двум сторонам мембранного бислоя. Обычно этим классом липидов сильно обогащена внутренняя сторона бислоя, но при апоптозе молекулы ФС перемещаются на внешнюю сторону мембраны [188]. Распределение ЦАЭФ и ФС в клетках организма-хозяина и их роль в деградации симбиосом при обесцвечивании кораллов требуют дальнейших исследований, но, скорее всего, ЦАЭФ и ФС на ранней стадии обесцвечивания, в отличие от ФИ, ФХ и ФЭ, не участвуют в ответной реакции липидома полипа на тепловой стресс.

Два молекулярных вида ФИ, 18:0/22:4 и 18:0/24:5, составили 80% от суммы ФИ. Эти молекулярные виды ФИ содержали остатки n-6 ПНЖК, а остальные – остатки n-3 ПНЖК. В экспериментальных колониях существенное снижение общего содержания ФИ (рис. 19) привело к достоверному снижению содержания каждого молекулярного вида ФИ к концу эксперимента. Соотношение n-6/n-3 молекулярных видов ФИ зависело от факторов температуры и времени (прил. 3, табл. 1) и увеличилось вдвое (HSD test, $p < 0.05$) после 36-ти часов тепловой обработки.

Профиль молекулярных видов ФХ, среди которых были обнаружены только алкилацильные формы, достоверно менялся при температурной обработке экспериментальных колоний (прил. 3, табл. 1, 3; рис. 20). Содержание ФХ с $C_{16,18}$ ПНЖК снижалось, а концентрация ФХ с остатком 20:4, наоборот, увеличивалась с течением времени. Содержание ФХ с C_{24} ПНЖК было стабильным. Превращение ФХ в ЛФХ было незначительным в течение эксперимента. Достоверных изменений в процентном содержании этих же молекулярных видов в контрольных колониях не было (рис. 20).

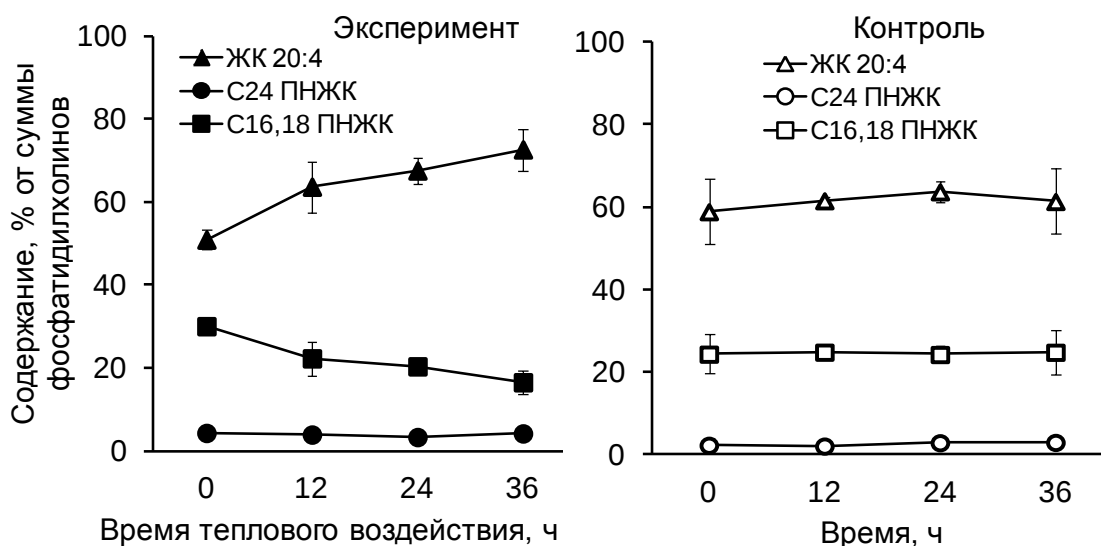


Рисунок 20 – Изменение содержания (% от класса липидов) молекулярных видов холинглицерофосфолипидов (ФХ) с ацильными группами 20:4, C_{24} ПНЖК и $C_{16,18}$ ПНЖК в экспериментальных (33°C) и контрольных (27°C) колониях *S. heterospiculata*. Звездочкой отмечены точки, в которых значения достоверно отличаются от значений в 0-й точке эксперимента (HSD test, $p < 0.05$)

Мы обнаружили, что большинство молекулярных видов ФХ с остатками C_{16-18} ПНЖК представляют собой алкилацильные липиды, которые не могут синтезироваться зооксантеллами. В то же время известно, что зооксантеллы выступают, как основной источник C_{16-18} ПНЖК. Следовательно, присутствие алкилацильных молекулярных видов ФХ с маркерными ПНЖК зооксантелл может быть подтверждением переноса ПНЖК от симбионтов к организму-хозяину и использования ПНЖК симбиотического происхождения для синтеза собственных фосфолипидов организма-хозяина коралла. Двукратное снижение во время эксперимента процентного содержания молекулярных видов ФХ с ПНЖК-маркерами зооксантелл (16:0alk/16:2, 16:0alk/16:3, 16:0alk/18:3 и 16:0alk/18:4) (рис. 20) указывает на быстрый катаболизм таких молекулярных видов при уменьшении поступления C_{16-18} ПНЖК после частичной потери зооксантелл на ранней стадии обесцвечивания.

Основным молекулярным видом ФЭ альционии *S. heterospiculata* был 18:1alk/20:4 (50-73%) (прил. 3, табл. 3). В отличие от контрольных колоний, в колониях, подверженных тепловому воздействию, наблюдались достоверные изменения в профиле молекулярных видов ФЭ (прил. 3, табл. 1; рис. 21). В начале эксперимента были идентифицированы только алкилацильные молекулярные виды ФЭ, но после 24 часов теплового воздействия в экспериментальных колониях появились диацильные формы ФЭ, содержание которых к концу эксперимента достигло 22% от суммы ФЭ (рис. 21). Повышение доли диацильных ФЭ привело к существенному снижению содержания всех алкилацильных ФЭ (HSD test, $p < 0.05$), кроме ФЭ 18:1alk/20:4. Уровень ФЭ 18:1alk/20:4 увеличился после 12 и 24-х часов теплового воздействия, но к концу эксперимента вернулся к первоначальному значению (HSD test, $p < 0.05$).

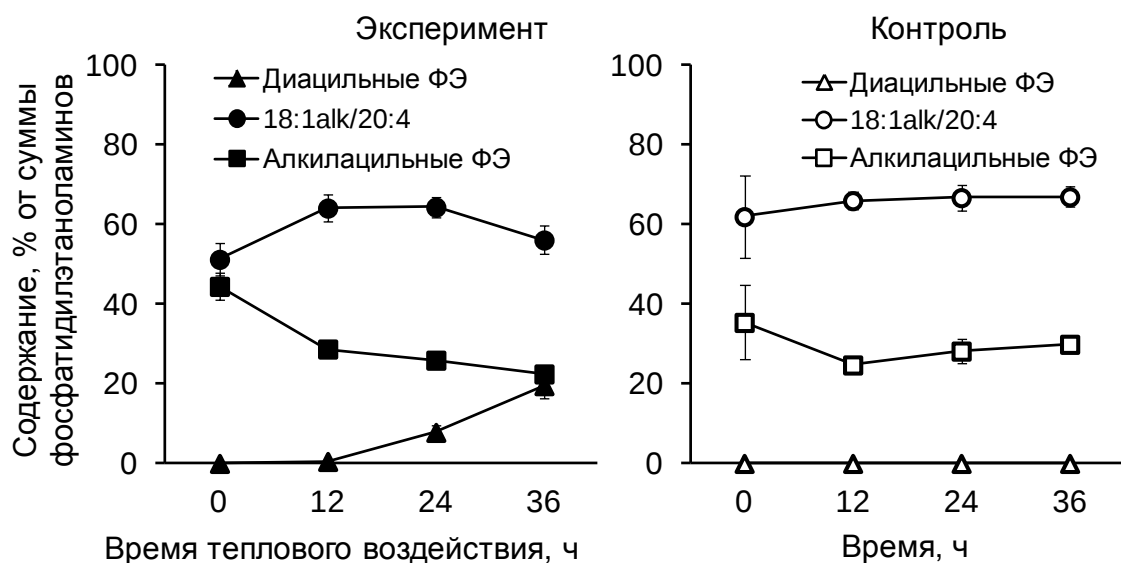


Рисунок 21 – Изменение содержания (% от класса липидов) диацильных и алкилацильных форм этаноламинглицерофосфолипидов (ФЭ) и молекулярного вида ФЭ 18:1alk/20:4 в экспериментальных (33°C) и контрольных (27°C) колониях *S. heterospiculata*. Звездочкой отмечены точки, в которых значения достоверно отличаются от значений в 0-й точке эксперимента (HSD test, $p < 0.05$)

Синтез сложноэфирных ФЛ (диацильная форма) и ФЛ с простой эфирной связью (алкилацильная форма) начинается в пероксисомах и затем завершается в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР). В пероксисомах алкилглицеролфосфатсинтаза (AGPS) катализирует превращение сложноэфирной связи в простую эфирную связь, при этом ацильная группа превращается в алкильную [189]. Обесцвечивание кораллов сопровождается окислительным стрессом и увеличением выработки активных форм кислорода [187], которые используются пероксисомами и могут влиять на метаболизм фосфолипидов в этих органеллах. Наш эксперимент показал, что под действием повышенной температуры в альционарии происходит значительное изменение в соотношении алкилацильных/диацильных форм ФЭ, что указывает на изменение активности соответствующих ферментов в пероксисомах и ЭР на ранней стадии обесцвечивания.

В конце эксперимента в липидоме *S. heterospiculata* обнаружили два молекулярных вида нового класса фосфолипидов, которые составили 23% от суммы ФЛ (прил. 3, табл. 3; рис. 19). Эти молекулярные виды дают ионы $[M-H]^-$ с m/z 842.5660 и 870.5897 (рис. 22), что согласуется с брутто-формулами $[C_{45}H_{81}NO_{11}P]^-$ (расчетная масса 842.5547) и $[C_{47}H_{85}NO_{11}P]^-$ (расчетная масса 870.5864). В результате MS^2 фрагментации ионов $[M-H]^-$ образуются пики с m/z 464.3178 и m/z 464.3188, что соответствует иону $[C_{23}H_{47}NO_6P]^-$ (расчетная масса 464.3141; 1-О-октодеценилглицеролфосфоэтаноламин) (рис. 22). Сигнал иона глицеролфосфоэтанолamina с m/z 196.0373, характерный для всех молекулярных видов ФЭ, появляется в MS^3 спектре обоих компонентов (рис. 22). Для установления структуры новый класс ФЛ был подвергнут мягкому кислотному гидролизу, в условиях которого происходит отщепление винильных групп, а ацильные группы не затрагиваются. ВЭЖХ-МС анализ продуктов гидролиза этого ФЛ показал наличие иона с m/z 620.3287 $[C_{29}H_{51}NO_{11}P]^-$, который получается в результате разрыва связи С-О и потере нейтрального фрагмента $C_{18}H_{34}$, что подтверждает, что молекулярные виды нового класса ФЭ содержат простую эфирную связь и являются алкенильной формой (рис. 22). Фрагментация иона $[C_{29}H_{51}NO_{11}P]^-$ привела к образованию иона $[C_{24}H_{40}O]^-$ с m/z 423.2854, что может соответствовать окисленной ПНЖК с 24-мя атомами углерода (рис. 22). Мы идентифицировали новые молекулярные виды, как окисленные производные ФЭ (окФЭ), которые ацильные группы содержат четыре дополнительных атома кислорода.

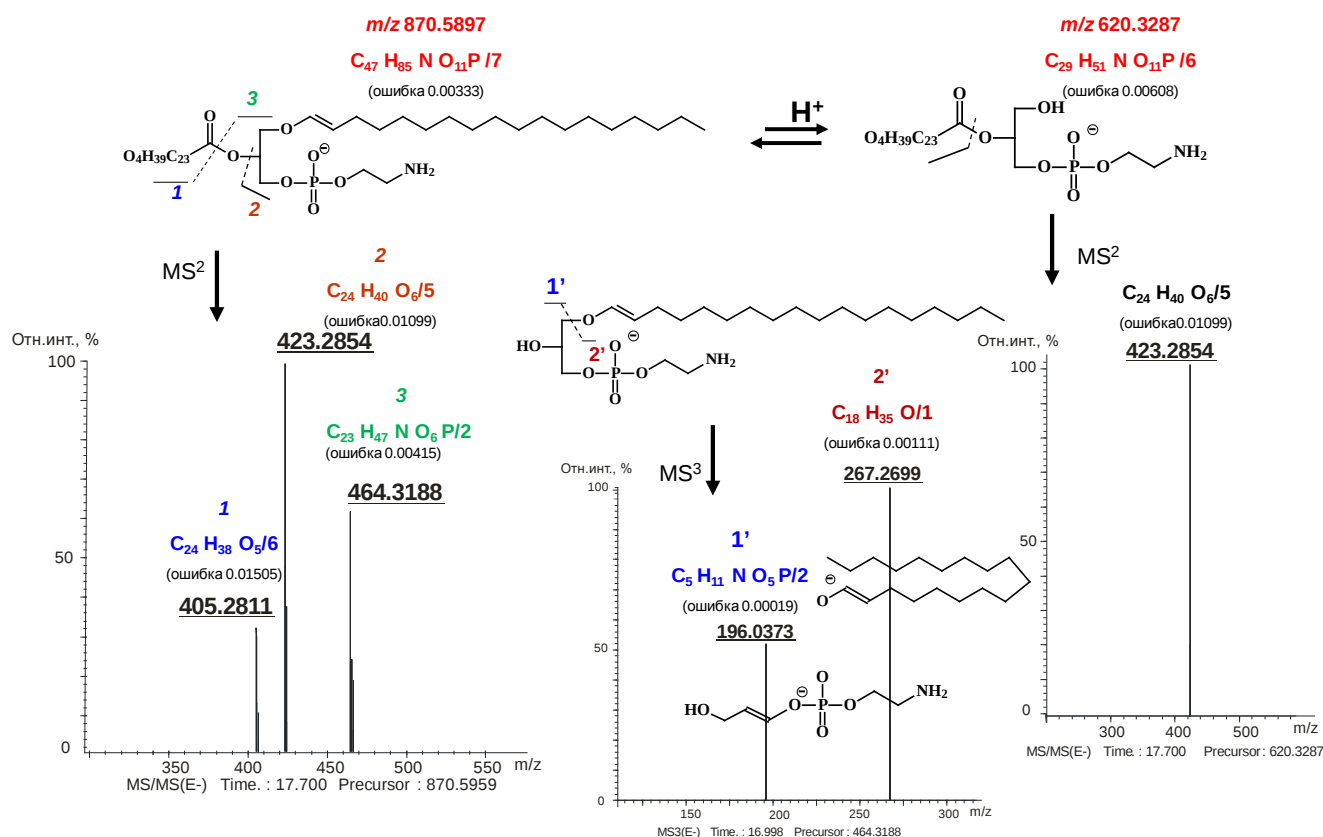


Рисунок 22 – (-) ИЭР масс-спектры и схемы фрагментации окисленного производного ФЭ (окФЭ) и продуктов его мягкого кислотного гидролиза. MS/MS – спектр иона окФЭ [$C_{47}H_{85}NO_{11}P$]⁻ при m/z 870.5897 и MS³ – спектр фрагмент-иона [$C_{23}H_{47}NO_6P$]⁻ при m/z 464.3188 и схемы их фрагментаций; MS/MS – спектр иона продукта гидролиза окФЭ [$C_{29}H_{51}NO_{11}P$]⁻ при m/z 620.3287 и схема его фрагментации. Липид окФЭ выделен из экспериментальных колоний *S. heterospiculata*

Мы полагаем, что на ранних стадиях обесцвечивания основной мишенью в липидоме альционии является ФЭ, о чем свидетельствуют резкое снижение уровня ФЭ, замещение алкилацильных молекулярных видов ФЭ на диацильные и появление продуктов гидролиза (ЛФЭ) и окисления (окФЭ) этого класса липидов. Лизофосфолипиды, диацилглицерины и свободные ЖК обычно присутствуют в липидах книдарий [183, 190]. Известно, что колонии кораллов содержат разнообразные молекулярные виды лизофосфолипидов [89] которые связаны с модуляцией мембранных свойств клеток кораллов [79], однако окисленные липиды ранее в кораллах обнаружены не были. В альционии *S. heterospiculata* C_{20-24} ПНЖК замещают положение *sn*-2 в глицериновом остове молекулярных видов ФЭ. По данным масс-спектрометрии общее количество атомов углерода в ацильных группах двух молекулярных видов окФЭ соответствует окисленным производным C_{22} и C_{24} ПНЖК. Мы полагаем, что окФЭ, найденные нами в липидах альционии после тепловой обработки, содержат в положении *sn*-2 окисленные ПНЖК. Интересно отметить, что фосфолипиды такой структуры участвуют в регуляции воспаления, тромбоза, ангиогенеза и других важных процессов у высших животных [191]. Предположительно, окФЭ может синтезироваться либо путем прямого окисления молекул ФЭ, либо этерификацией ЛФЭ окисленными ПНЖК. Одновременное появление ЛФЭ

и окФЭ в экспериментальных колониях коралла (рис. 19) указывает на возможную биосинтетическую связь между ЛФЭ и окФЭ. Необходимы дальнейшие исследования для определения полной химической структуры, путей биосинтеза и биологических функций окФЭ в кораллах, подверженных тепловому стрессу.

2.2.1.2 Динамика состава липидов зооксантелл под действием теплового стресса

В симбиотических видах кораллов и других морских беспозвоночных, например, в гидрокораллах, медузах, морских анемонах, двустворчатых и голожаберных моллюсках, хлорофилл и ГЛ являются частью фотосинтетического аппарата их симбионтов [32]. Несмотря на интенсивные исследования ГЛ фотосинтетических организмов, информация о ГЛ эндосимбиотических динофлагеллят, обитающих в беспозвоночных животных, весьма ограничена [75, 127]. В липидоме альционарий рода *Sinularia* присутствовали МГДГ, ДГДГ и СХДГ, которые являются основными классами ГЛ тилакоидных мембран зооксантелл. Кислота 18:4n-3, которая этерифицирует основные молекулярные виды галактолипидов [101, 110], используется, как биохимический маркер зооксантелл кораллов [8]. Очевидно, что уровни хлорофилла, гликолипидов и 18:4n-3 могут быть использованы для оценки содержания клеток зооксантелл в тканях коралла.

Содержание хлорофилла в экспериментальных колониях *S. heterospiculata* зависит как от температуры, так и от времени воздействия (прил. 3, табл. 1). Уровень хлорофилла в этих колониях (120 ± 19 мкг/г с.в.) достоверно снизился (HSD test, $p < 0.05$) уже после 12-ти часов теплового воздействия и составил 53 ± 4 мкг/г с.в. к концу эксперимента (рис. 23, А). В контрольных колониях уровень хлорофилла не изменился (HSD test, $p > 0.05$).

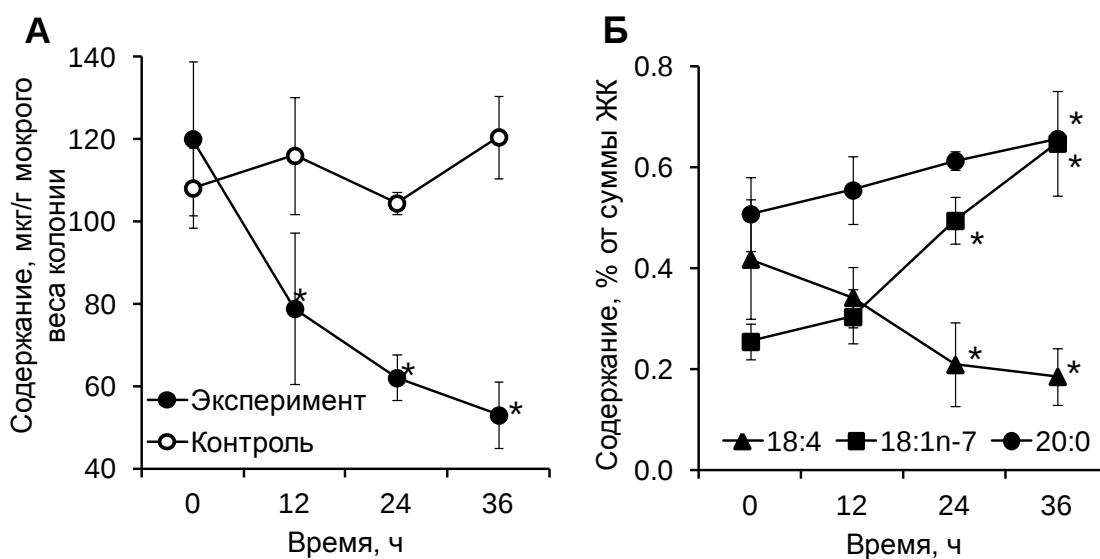


Рисунок 23 – Изменение содержания (А) хлорофилла (a+b) (мкг/г сырого веса) и (Б) некоторых ЖК (% от суммы) в экспериментальных (33°C, черные символы) и контрольных (27°C, белые символы) колониях *S. heterospiculata*. Звездочкой отмечены точки, достоверно отличающиеся от контроля (HSD test, $p < 0.05$)

Среди общих ЖК, полученных гидролизом общих липидов альционии, доминировали насыщенные ЖК ($51.5 \pm 1.5\%$) и ПНЖК ($41.8 \pm 1.6\%$) (прил. 3, табл. 2). Содержание мононенасыщенных ЖК было относительно низким ($6.0 \pm 0.3\%$ от суммы ЖК). Основными ПНЖК были 16:2n-7, 20:4n-6, 18:2n-6 и 18:2n-7. В общих ЖК колоний *S. heterospiculata* присутствовали маркеры зооксантелл (18:3n-6 и 18:4n-3) и маркеры тканей организма-хозяина (24:5n-6 и 24:6n-3). Процентное содержание нескольких ЖК (18:1n-7, 18:3n-6, 18:4n-3 и 20:0) достоверно менялось (HSD test, $p < 0.05$) в экспериментальных колониях, но оставалось стабильным в контрольных образцах (HSD test, $p > 0.05$) (прил. 3, табл. 1). К концу эксперимента содержание 18:1n-7 и 20:0 выросло, а содержание 18:4n-3, маркера зооксантелл, снизилось почти в два раза (рис. 23, Б). Наблюдалась положительная корреляция ($r = 0.4243$) между содержанием хлорофилла и ПНЖК 18:4n-3.

В отличие от уровней запасных и структурных липидов, уровень ГЛ в колониях альционии зависел как от фактора времени, так и от температуры (прил. 3, табл. 1). Через 36 часов в экспериментальных колониях уровень МГДГ уменьшился на 80%, а уровень ДГДГ+СХДГ уменьшился в три раза (HSD test, $p < 0.05$) (рис. 24). В контрольных колониях уровень ГЛ достоверно не изменился ($p > 0.05$, рис. 24). Была обнаружена положительная корреляция между уровнями МГДГ ($r = 0.7699$), ДГДГ+СХДГ ($r = 0.7029$) и ПНЖК 18:4n-3.

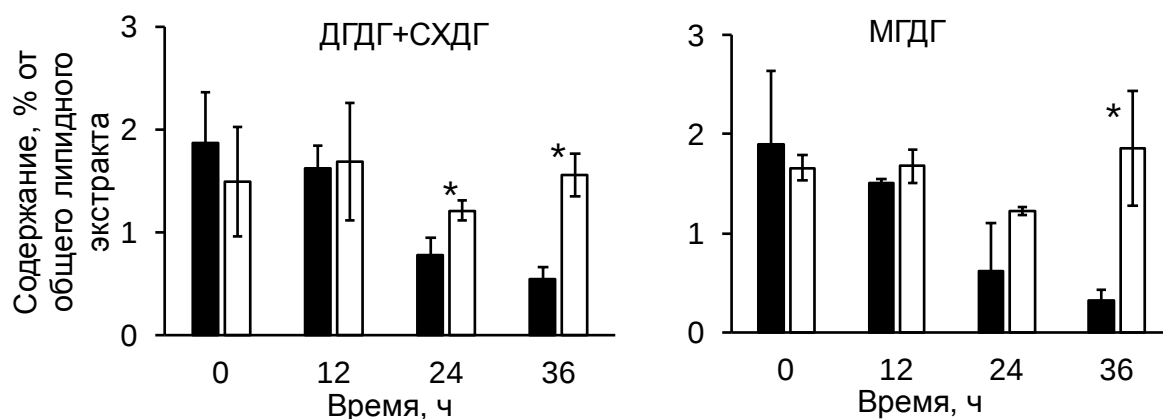


Рисунок 24 – Изменение содержания (% от общих липидов) суммы ДГДГ+СХДГ и МГДГ в экспериментальных (33°C, черные столбцы) и контрольных (27°C, белые столбцы) колониях *S. heterospiculata*. Звездочкой отмечены достоверные отличия от контроля (HSD test, $p < 0.05$)

Содержание хлорофилла и липидов в зооксантеллах может до некоторой степени варьироваться при термическом стрессе [136], но одновременное значительное снижение уровня хлорофилла и маркерных липидов (рис. 23, 24) четко указывает на повреждение и потерю зооксантелл в экспериментальных колониях *S. heterospiculata*. Известно, что полное обесцвечивание кораллов в результате полной потери зооксантелл сопровождается заметным снижением содержания общих липидов [130] и некоторых основных ПНЖК [132], которые

используют, как биохимические показатели жизнеспособности коралла [11, 183]. В нашем эксперименте мы не обнаружили достоверных изменений в содержании общих липидов, суммы запасных липидов, фосфолипидов и основных ЖК, таких как 16:0, 20:4n-6, 16:2n-7 и 18:2n-6, после 36 часов действия повышенной температуры. Поэтому мы обозначили состояние *S. heterospiculata*, как начальную стадию обесцвечивания. Наше исследование показало, что липидные маркеры зооксантелл, такие как уровень ГЛ и ПНЖК 18:4n-3, являются более информативными на ранней стадии обесцвечивания коралла, нежели обычные липидные индикаторы, такие как уровень общих липидов и ЖК.

Среди гликолипидов альционии идентифицировали 24 молекулярных вида МГДГ, ДГДГ и СХДГ (прил. 3, табл. 3). Основными молекулярными видами МГДГ являлись 16:3/20:5, 18:4/18:5 и 16:3/18:4 ($70.9 \pm 7.2\%$ от суммы МГДГ), а основными ДГДГ – 18:4/20:5, 18:4/18:4 и 16:3/18:4 ($82.6 \pm 2.7\%$ от суммы ДГДГ). Молекулярные виды 14:0/16:0, 14:1/16:0 и 16:0/16:0 составили $81.8 \pm 2.2\%$ от суммы СХДГ.

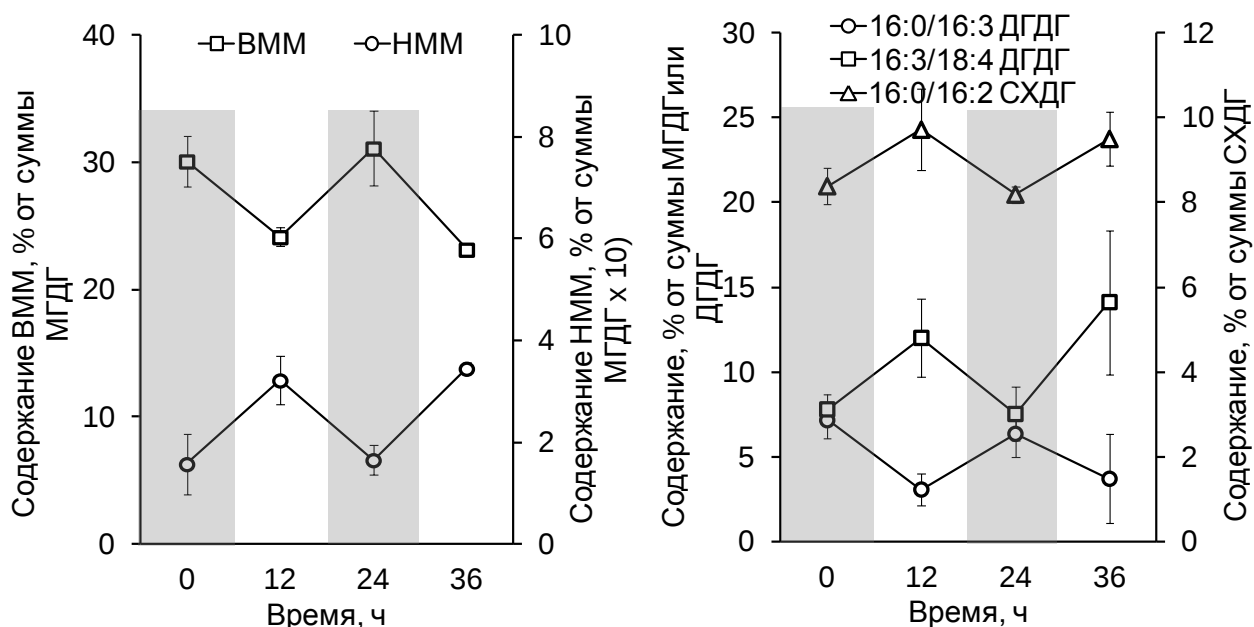


Рисунок 25 – Изменение содержания (% от класса липидов) молекулярных видов МГДГ с низким и высоким молекулярным весом (НМВ и ВМВ), а так же ДГДГ 16:0/16:3, ДГДГ 16:3/18:4, и СХДГ 16:0/16:2 в контрольных (27°C) колониях *S. heterospiculata*. Темным и светлым фоном обозначены, соответственно, темновой (12 ч) и световой (12 ч) периоды культивации колоний

Каждые сутки все колонии кораллов 12 часов находились на свету и 12 часов – в темноте. В контрольных колониях *S. heterospiculata* наблюдали циклические суточные колебания (HSD test, $p < 0.05$) процентного содержания некоторых молекулярных видов ГЛ (рис. 25), а именно, ДГДГ 16:0/16:3, ДГДГ 16:3/18:4 и СХДГ 16:0/16:2, а также суммы МГДГ (32:6, 32:5, 32:4, 16:0/16:3, и 16:3/18:5) с низким молекулярным весом (НМВ) и суммы МГДГ (16:3/18:4, 18:4/18:5, и 16:3/20:5) с высоким молекулярным весом (ВМВ) (прил. 3, табл. 1). Процентное содержание ДГДГ 16:3/18:4, СХДГ 16:0/16:2 и НМВ было достоверно ниже (HSD test, $p < 0.05$)

в темновые периоды (0 и 24 ч), чем в световые периоды (12 и 36 ч). Напротив, концентрация ДГДГ 16:0/16:3 и ВМВ была достоверно выше в темновые периоды (HSD test, $p < 0.05$). Была обнаружена отрицательная корреляция ($r = -0.9702$) между концентрациями НМВ и ВМВ.

В отличие от контрольных колоний, в экспериментальных колониях альционии достоверных колебаний в составе молекулярных видов каждого класса ГЛ не было (HSD test, $p > 0.05$), что указывает на немедленное нарушение суточного ритма биосинтеза ГЛ в оставшихся зооксантеллах альционии *S. heterospiculata* в условиях теплового стресса. Несмотря на непрерывное уменьшение количества ГЛ в экспериментальных колониях альционии (рис. 24), что легко объяснить выбросом и деградацией зооксантелл, профиль молекулярных видов каждого класса ГЛ оставался относительно стабильным. Возможно, поврежденные симбионты с серьезными нарушениями в мембранах фотосинтетического аппарата и, соответственно, в составе ГЛ непрерывно удаляются, тогда, как здоровые клетки зооксантелл остаются в организме-хозяине, благодаря чему мы и наблюдаем отсутствие достоверных изменений в составе молекулярных видов каждого класса ГЛ.

Суточные колебания в содержании липидов и ЖК известны для растений и, в частности, для водорослей [192]. В контрольных колониях альционии *S. heterospiculata* мы наблюдали суточные изменения в пропорции между НМВ и ВМВ. Эти две группы МГДГ различались по составу ацильных остатков: НМВ в основном содержали остатки C_{16} ПНЖК, а ВМВ – C_{18-20} ПНЖК.

ЖК водорослей синтезируются в пластидах, затем используются в синтезе пластидных липидов, включая ГЛ (прокариотический путь) или экспортируются в эндоплазматический ретикулум (ЭР) для синтеза непластидных липидов (эукариотический путь), которые могут транспортироваться обратно в пластиды [193], чтобы служить предшественниками «эукариотических» молекулярных видов гликолипидов [127, 194]. Гликолипиды, синтезированные по прокариотическому пути, содержат C_{16} ПНЖК, а гликолипиды эукариотического пути – $C_{18,20,22}$ ПНЖК. В водорослях возможен дальнейший синтез C_{20-22} ПНЖК [195] под действием элонгаз и десатураз в ЭР. Таким образом, суточные колебания в пропорции НМВ/ВМВ в *S. heterospiculata* связаны с балансом между прокариотическими и эукариотическими путями синтеза ЖК и/или обратным транспортом ПНЖК из ЭР в пластиды, а нарушение суточной цикличности можно объяснить влиянием теплового стресса на упомянутые процессы синтеза и транспорта ЖК в зооксантеллах.

2.2.1.3 Общие тенденции изменений липидома коралла под действием теплового стресса

Уровни различных классов липидов и индивидуальных молекулярных видов липидов, составляющих липидом *S. heterospiculata*, показали различную динамику в процессе

обесцвечивания этой симбиотической альционии. С одной стороны, та часть полного липидома, которую составили липиды фотосинтетического аппарата зооксантелл, показала немедленную реакцию на действие теплового стресса, что выразилось в неуклонном уменьшении уровней ГЛ и ПНЖК 18:4n-3, коррелирующего с падением уровня хлорофилла, в течение всего эксперимента (рис. 23, 24). В экспериментальных колониях (33°C) сразу была нарушена естественная суточная цикличность пропорции между молекулярными видами гликолипидов (рис. 25). С другой стороны, в течение 24-х часов эксперимента содержание основных запасных и структурных липидов, которые характеризуют ткани организма-хозяина, не изменялось, за исключением некоторых молекулярных видов фосфолипидов (рис. 17-20). За первые сутки эксперимента были обнаружены начальные изменения в составе молекулярных видов ФХ и ФЭ (рис. 20, 21). Затем, после 36-ти часов теплового воздействия, в колониях, подверженных стрессу, наблюдались обвальные изменения в содержании основных компонентов липидома, исключая ФС (рис. 17-20). В частности, к концу эксперимента достоверно уменьшилось количество запасных классов ТГ и МАДАГ, основных классов структурных липидов, и в липидоме коралла появились ЛФЭ и новые окисленные производные (окФЭ) (рис. 19). На рисунке 26 наглядно показаны основные тенденции в ремоделировании липидома альционии *S. heterospiculata* после 24-х и 36-ти часового воздействия повышенной температуры.

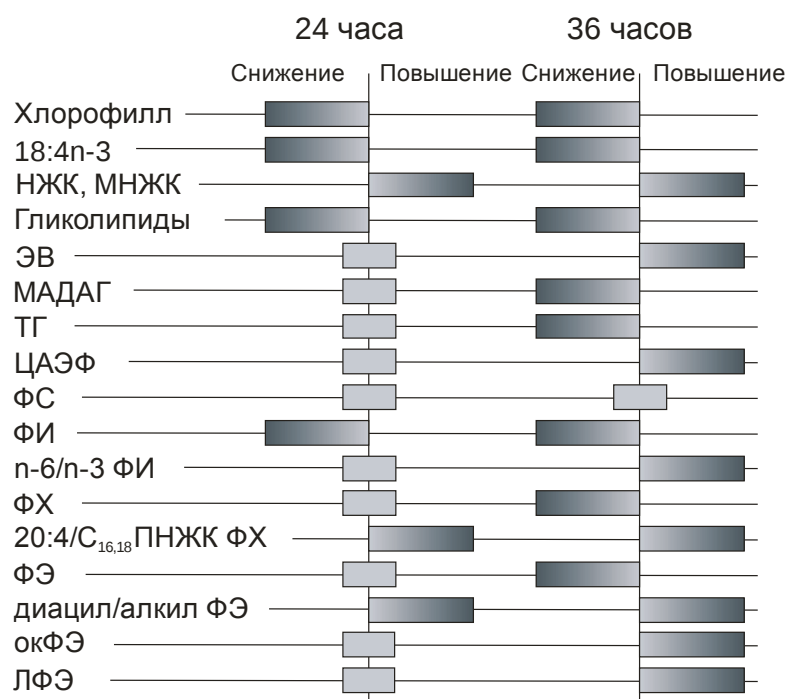


Рисунок 26 – Основные тренды изменения липидома мягкого коралла *S. heterospiculata* после 24-х и 36-ти часов теплового воздействия (экспериментальные колонии, 33°C). Обозначения: НЖК, МНЖК – насыщенные и мононенасыщенные ЖК; n-6/n-3 ФИ, соотношение молекулярных видов ФИ, содержащих n-6 и n-3 ЖК в ацильных группах; 20:4/C_{16,18} ПНЖК ФХ, соотношение молекулярных видов ФХ с 20:4 и C_{16,18} ПНЖК в ацильных группах; диацил/алкил ФЭ, соотношение диацильных и алкилацильных молекулярных видов ФЭ

Изучение физиологических и биохимических изменений в симбиотической ассоциации кораллов на ранней стадии обесцвечивания при тепловом стрессе важно для понимания механизмов запуска и развития процесса обесцвечивания кораллов. Липиды, которые являются структурной основой клеточных мембран и энергетическим резервом у кишечнорастворимых, принимают участие в ответной реакции симбионтов и организма-хозяина на термический стресс. Наш эксперимент показал, что ряд классов и молекулярных видов липидов симбиотического коралла очень чувствителен к тепловому стрессу, поэтому анализ липидома даёт больше информации, чем классический анализ состава общих ЖК и уровня общих липидов. При исследовании начальной стадии обесцвечивания кораллов следует использовать липидомный подход. Обнаруженные нами существенные изменения липидома коралла указывают, что 1) среди полярных липидов главной мишенью теплового воздействия является ФЭ; 2) тепловой стресс влияет на баланс между «прокариотическими» и «эукариотическими» путями синтеза ГЛ в зооксантеллах и обратный транспорт ПНЖК из ЭР в пластиды; 3) тепловой стресс нарушает перенос ПНЖК от симбионтов к тканям полипов коралла. Анализ динамики липидома позволяет предположить, что мягкий коралл *S. heterospiculata*, типичный представитель экосистемы коралловых рифов, способен быстро восстановить повреждения после перенесенного однодневного теплового стресса, однако более продолжительный тепловой стресс вызывает качественную перестройку липидома, которая является критичной для здоровья коралла и, скорее всего, потребует длительного периода восстановления.

2.2.2 Эксперимент по обесцвечиванию *S. heterospiculata* с дополнительным анализом методами электронной микроскопии и проточной флуороцитометрии

Для того чтобы подтвердить основные закономерности в динамике липидома *S. heterospiculata*, которые мы наблюдали при действии теплового стресса, а также изучить физиологические изменения, происходящие в тканях коралла, и сопоставить их с изменениями липидома, мы повторили эксперимент по обесцвечиванию *S. heterospiculata*, но увеличили число повторов ($n = 4$) и время эксперимента до 72 часов. Кроме того, для улучшения условий обитания колоний, вместо 40-литрового экспериментального аквариума, использовали аквариум большего объема (400 л).

Липидомный анализ был проведен для контрольных колоний (27°C) и колоний, отобранных сразу после повышения температуры (0 ч) и через 24, 48 и 72 ч теплового воздействия (33°C). Так как липидные показатели контрольных образцов и собранных сразу после повышения температуры (0 ч) достоверно не отличались (HSD test, $p > 0.05$), для упрощенного представления данных липидомного анализа контрольная точка не использовалась, но данные приведены в таблице 1 приложения 4.

Параллельно с анализом липидома, методом проточной цитометрии оценивали физиологическое состояние (степень апоптоза и некроза) клеток коралла и зооксантелл в колониях при 27°C (контроль), в колониях сразу после поднятия температуры до 33°C (0 часов), а также через 24, 48 и 72 часа теплового воздействия (33°C). Морфологический анализ тканей проводили методом трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) для контрольных колоний и колоний после 48 ч теплового воздействия.

Изменения в клетках симбионтов под действием теплового стресса

По данным электронной микроскопии в гастродермальном слое коралла *S. heterospiculata* после 48 часов тепловой обработки заметно уменьшилась плотность зооксантелл (рис. 27, А, Б), что также подтверждают данные проточной цитометрии.

Процентное содержание хлорофилл-положительных клеток (зооксантелл) в суспензии поверхностных тканей коралла уменьшилось сразу после повышения температуры, достоверно снизилось с 31% до 8.6% через 24 ч теплового воздействия (*Z test*, $p < 0.05$) и затем не менялось до конца эксперимента (рис. 28). Как и в 36-ти часовом эксперименте (рис. 23, А), в условиях 72-ух часового эксперимента основная потеря зооксантелл происходила в течение суток, тогда как количество клеток, подверженных окислительному стрессу (АФК-положительные клетки), достоверно нарастало после 24 ч теплового воздействия (рис. 28).

Через 24 ч теплового воздействия в тканях коралла примерно вдвое снизилось количество хлорофилла *a* и содержание гликолипидов ДГДГ+СХДГ (*HSD test*, $p < 0.05$) (рис. 29, прил. 4, табл. 1). Примечательно, что температурный стресс не повлиял на содержание хлорофилла *b*, который составил около 17% от общего количества хлорофилла (*HSD test*, $p > 0.05$) (рис. 29; прил. 4, табл. 1). Прямая корреляция между содержанием зооксантелл, хлорофилла и ГЛ означает, что основная причина снижения уровней хлорофилла и ГЛ – это снижение плотности зооксантелл, поэтому эти показатели можно использовать для оценки потери зооксантелл (или степени обесцвечивания коралла) при тепловом стрессе.

По данным электронной микроскопии после 48 часов термического воздействия почти все симбионты имели признаки апоптоза (рис. 30, В; 31, Б, В). Зооксантеллы неплотно прилегали к мембране хозяина (усадка), отмечалось увеличение объема вакуолярного матрикса в симбиосоме. Наиболее заметные признаки структурной деградации обнаружили в хлоропластах. При раннем и среднем апоптозе хлоропласты утрачивали четкую вытянутую продолговатую форму (рис. 31, Б). Местами участки хлоропластов сливались, образуя более крупные и округлые органелльные тела. Нарушалась структура тилакоидов. Скопления пигмент-белковых комплексов появлялись в просветах стромы между гранами из тилакоидов (рис. 31, Е).

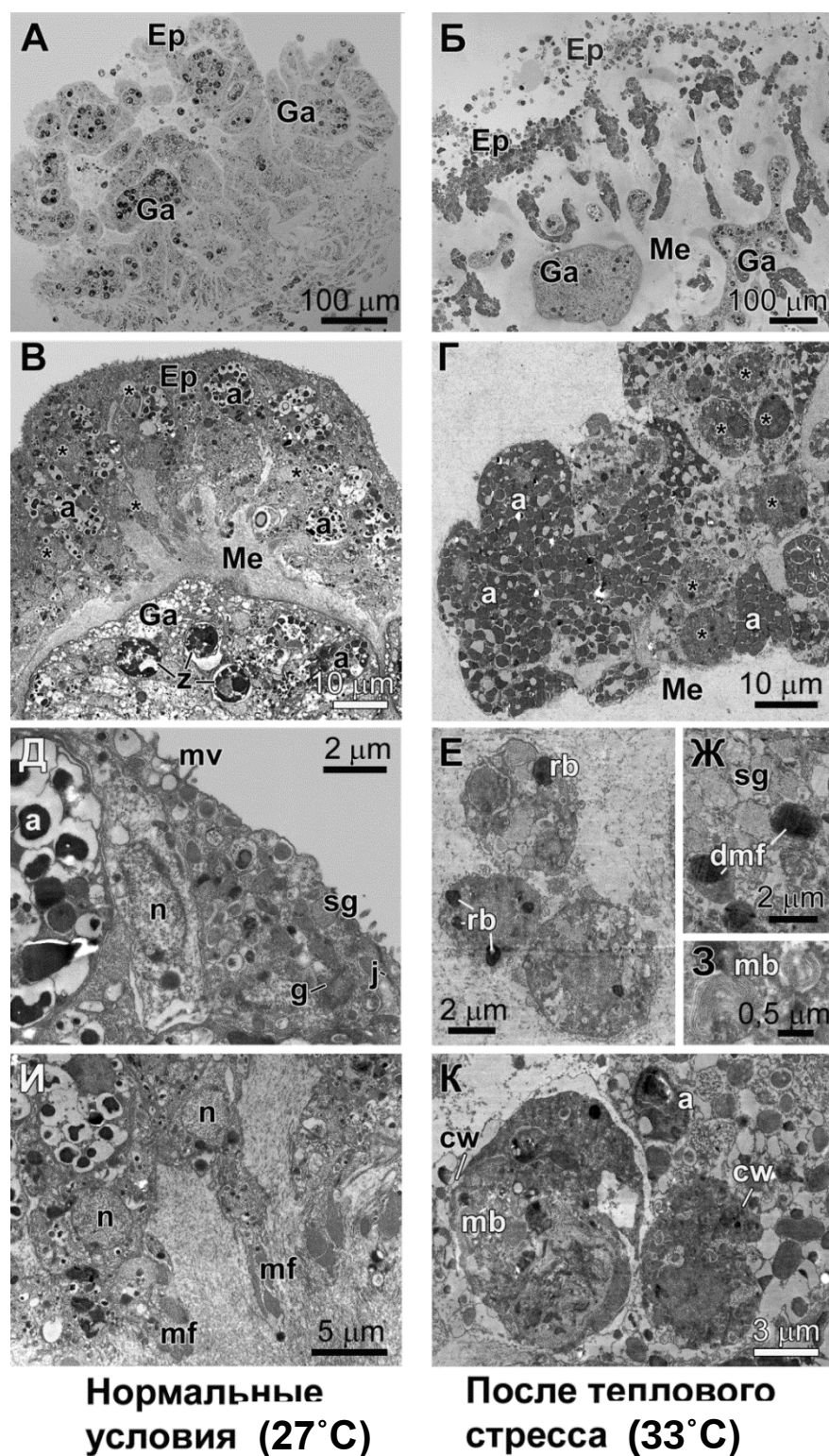


Рисунок 27 – Микроанатомия эпидермиса щупалец мягкого коралла *Sinularia heterospiculata* при нормальной температуре (27°C) и после теплового стресса (48 ч теплового воздействия при 33°C). Микрофотографии поперечных срезов, полученные с использованием ТЭМ. А, Б – общий вид тканей щупалец; В, Г – эпидермис, звездочками отмечены деградирующие клетки эпидермиса; Д – апикальный участок эпидермиса; Е – деградирующие клетки эпидермиса; Ж – структуры с дезинтегрированными миофибриллами; З – миелиноподобные тела; И – базальный участок эпидермиса; К – некротизированные клетки эпидермиса в пищеварительной вакуоли и цитоплазме гранулярных амебоцитов. Условные обозначения: а – гранулярный амебоцит, cw – клеточная стенка, dmf – структуры с дезинтегрированными миофибриллами, Ep – эпидермис, g – аппарат Гольджи, Ga – гастродерма, j – апикальный контакт, mb – миелиноподобное тело, Me – мезоглея, mf – миофибриллы. mv – микроворсинки, n – ядро, rb – остаточное тело, sg – секреторная гранула, z – зооксантелла

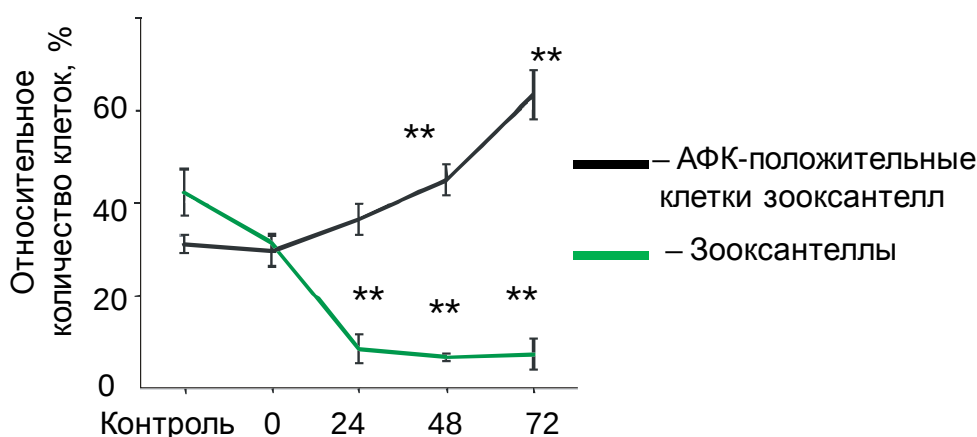


Рисунок 28 – Изменение процентного содержания зооксантелл (хлорофилл-положительных клеток) и клеток зооксантелл, подверженных окислительному стрессу (АФК-положительных клеток), в суспензии клеток альционии *S. heterospiculata* при действии повышенной температуры (33°C) в течении 72 ч. ** достоверное отличие от контроля (Z test, $p < 0.01$). АФК – активные формы кислорода

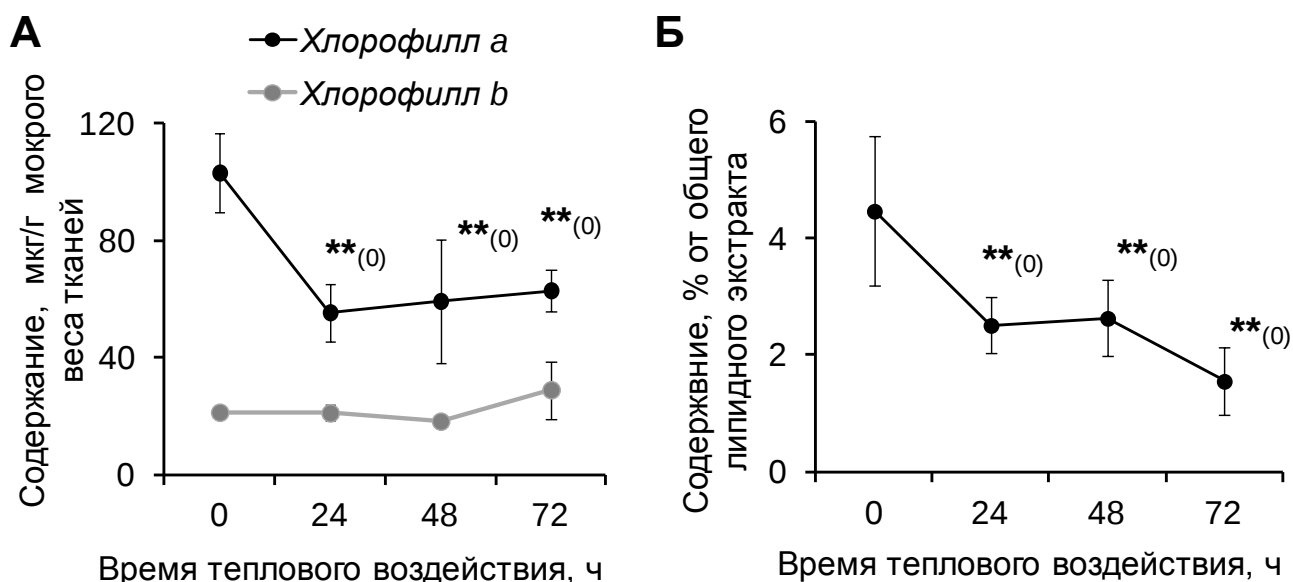


Рисунок 29 – Изменение содержания (А) хлорофиллов *a* и *b* (мкг/г влажной ткани) и (Б) суммы ДГДГ+СХДГ (% от общих липидов) в колониях *S. heterospiculata* при действии повышенной температуры (33°C) в течение 72 ч. ** достоверные отличия (HSD test, $p < 0.01$), (0) – достоверное отличие только от значения в 0-ой точке

Тилакоиды утрачивали параллельное расположение и плотные контакты друг с другом в гранах, частично разрушаясь (рис. 31, Ж). Дезинтегрированные мембраны тилакоидов, пигмент-белковые скопления неупорядоченно заполняли строму хлоропласта. Визуально отмечалось исчезновение четких параллельных просветов стромы между гранами. Параллельно идет фрагментация хлоропластов на участки разной величины (рис. 31, З). Компактные фрагменты обволакивались прилежащим участком мембраны хлоропласта, уплотняясь и образуя электронно-плотные округлые апоптозные тела.

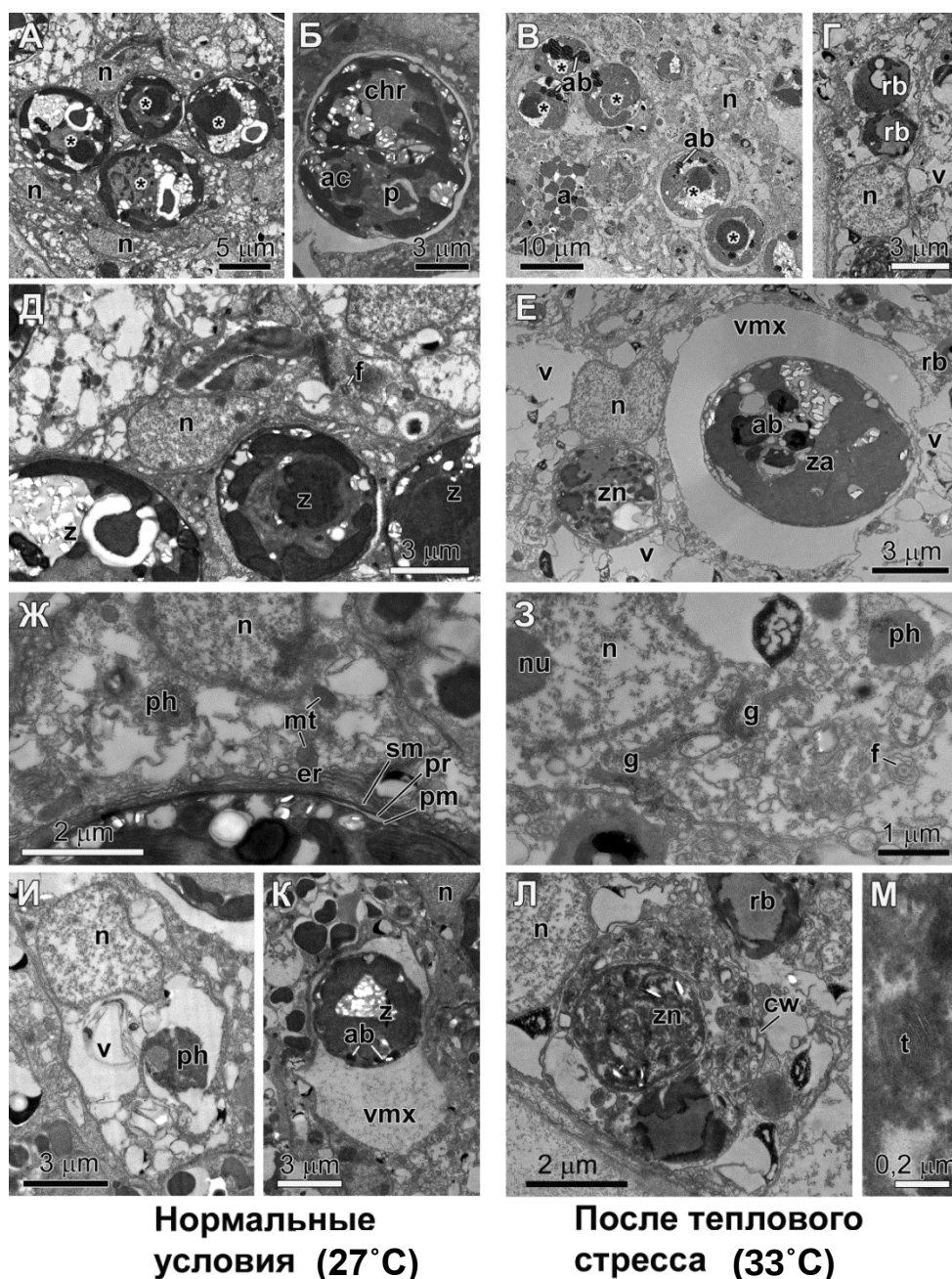


Рисунок 30 – Микроанатомия клеток организма-хозяина в гастродерме щупалец мягкого коралла *Sinularia heterospiculata* при нормальной температуре (27°C) и после 48 ч теплового воздействия при 33°C. Микрофотографии поперечных срезов, полученные с использованием ТЭМ. А – общий вид гастродермы, звёздочками отмечены зооксантеллы; Б – делящаяся зооксантелла; В, Г – общий вид гастродермы после теплового стресса, звёздочками отмечены зооксантеллы; Д – клетка хозяина с симбиосомой; Е – клетка хозяина с симбиофагосомой; Ж – структура симбиосомной мембраны; З – аппарат Гольджи; И, К – фагосома и симбиофагосома в клетке хозяина, соответственно; Л – некротическая зооксантелла и остаточные тела в цитоплазме клетки хозяина; М – тилакоидные мембраны в остаточном теле. Условные обозначения: а – гранулярный амёбоцит, ab – апоптотическое тело, ac – накопительное тело, chr – хромосомы, sw – клеточная стенка, er – эндоплазматический ретикулум, f – жгутик, g – аппарат Гольджи, mt – митохондрия, n – ядро клетки хозяина, nu – ядрышко, p – пиреноид, ph – фагосома, pm – плазматическая мембрана, pr – перипласт, rb – остаточное тело, sm – симбиосомная мембрана клетки хозяина, t – тилакоиды, v – вакуоль, vmx – вакуолярный матрикс, z – зооксантелла, za – апоптотическая зооксантелла, zn – некротическая зооксантелла

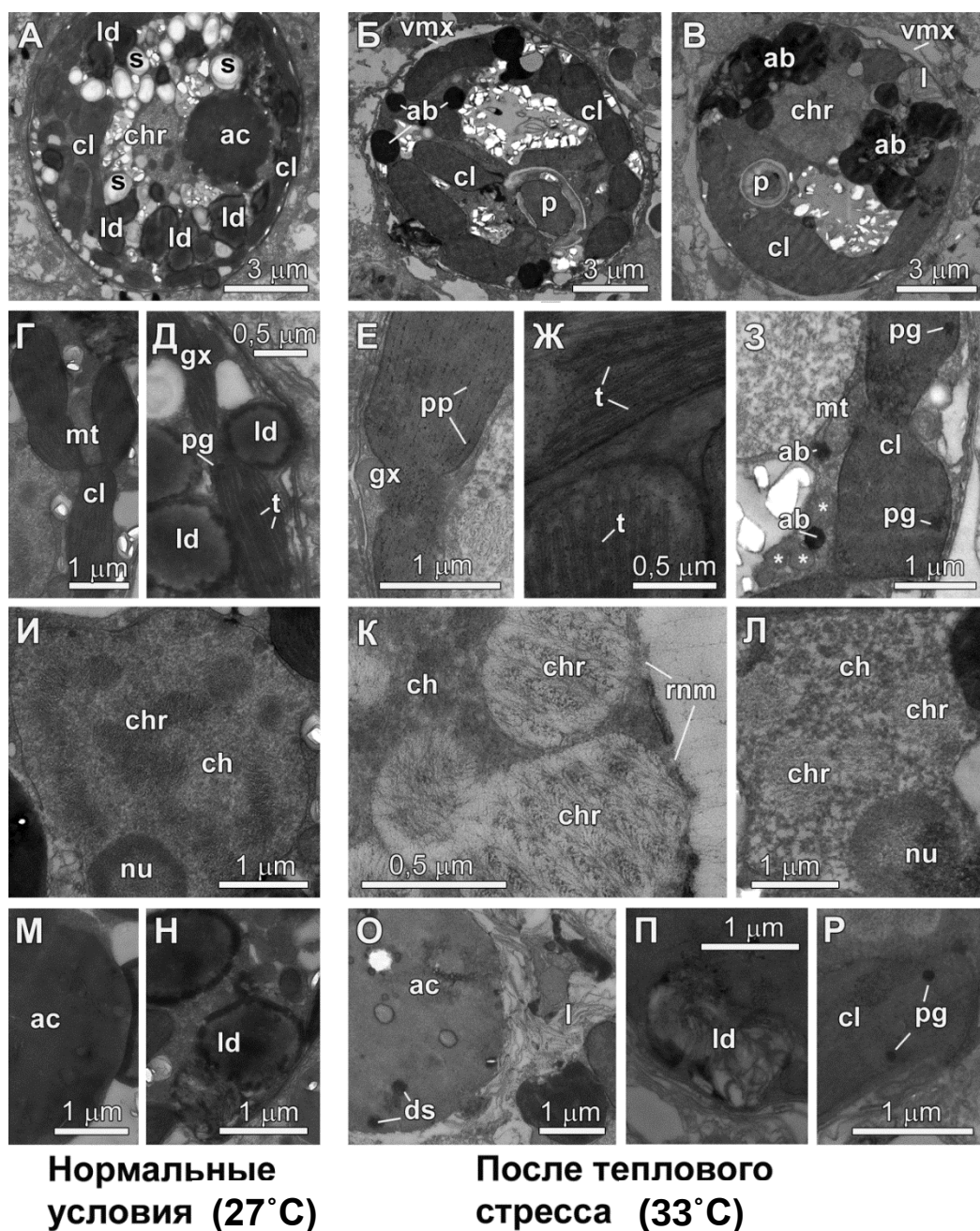


Рисунок 31 – Микроанатомия зооксантелл в гастродерме щупалец мягкого коралла *Sinularia heterospiculata* при нормальной температуре (27°C) и после 48 ч теплового воздействия при 33°C. Микрофотографии поперечных срезов, полученные с использованием ТЭМ. А – ультраструктура зооксантеллы; Б, В – ультраструктура зооксантелл на средней и поздней стадиях апоптоза, соответственно; Г, Д – строение хлоропластов; Е, Ж – изменение структуры хлоропластов; З – фрагментация хлоропластов и митохондрий, фрагменты митохондрий обозначены звёздочками; И, К, Л – ультраструктура ядра; М – накопительное тело; Н – липидные капли; О – накопительное тело и ламеллы хлоропластов; П, Р – липидные капли и пластоглобулы, соответственно. Условные обозначения: ab – апоптотное тело, ac – накопительное тело, chr – хромосомы, ch – хроматин, cl – хлоропласт, ds – электронно-плотные пятна, gx – глиоксисома, l – свободно плавающие ламеллы хлоропласта, ld – липидные капли, mt – митохондрия, nu – ядрышко, p – пиреноид, pg – пластоглобула, pp – пигмент-белковые комплексы, pmt – разрушенная ядерная мембрана, s – зерно крахмала, t – тилакоиды, vmx – вакуолярный матрикс

Эти морфологические изменения в фотосинтетическом аппарате сопровождались достоверными изменениями состава его мембранных липидов. Исходные профили молекулярных видов МГДГ, ДГДГ и СХДГ в двух экспериментах достоверно не различались (прил. 3, табл. 3; прил. 4, табл. 2). При 0 ч в 72-х часовом эксперименте МГДГ 16:3/20:5, 18:4/18:4, 18:4/18:5, 16:4/20:5 и 16:3/18:4 составили вместе $66.93 \pm 11.02\%$ от суммы МГДГ; ДГДГ 18:4/20:5, 16:3/22:6, 18:4/18:4 и 16:3/20:5 – $49.64 \pm 6.92\%$ от суммы ДГДГ, а 14:0/16:0, 14:1/16:0 и 16:0/16:0 – $86.38 \pm 0.53\%$ от суммы СХДГ (прил. 4, табл. 2). Как было отмечено в разделе 3.2.1.2, биосинтез молекул МГДГ, содержащих C_{16} ПНЖК, идёт по прокариотическому пути, а молекул МГДГ, содержащих C_{18-22} ПНЖК – по эукариотическому пути [113]. Через 48 часов теплового воздействия уровень «прокариотических» молекулярных видов МГДГ достоверно снизился с 44.06 ± 4.46 до $30.86 \pm 2.13\%$, а «эукариотических» – возрос с $55.94 \pm 4.46\%$ до $69.14 \pm 2.13\%$ от суммы МГДГ (HSD test, $p < 0.05$) (рис. 32, А). Достоверных изменений в профиле молекулярных видов ДГДГ не обнаружили.

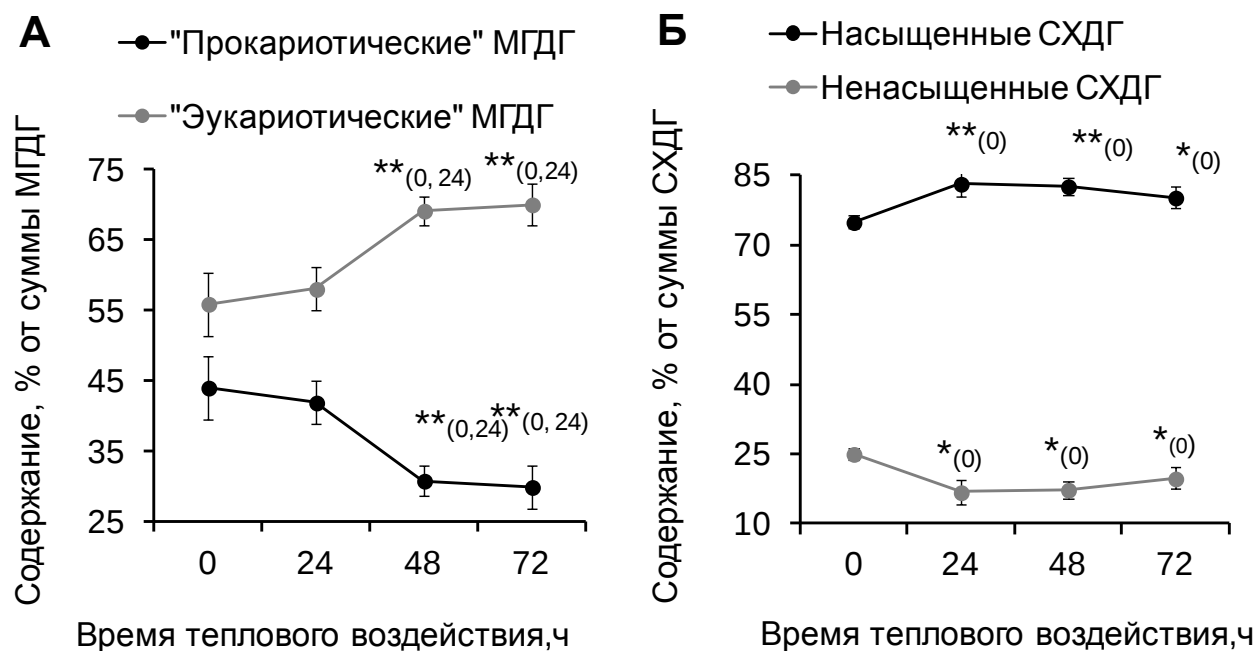


Рисунок 32 – Изменение содержания (% от класса липидов) (А) «прокариотических» и «эукариотических» молекулярных видов МГДГ, (Б) насыщенных и ненасыщенных молекулярных видов СХДГ в колониях *S. heterospiculata* при действии повышенной температуры (33°C) в течении 72 ч. В скобках над точкой графика указано время другой точки, в которой значение достоверно отличалось: * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$)

Известно, что при повышении температуры в фотосинтетическом аппарате зооксантелл происходят нарушения [25], а ГЛ являются структурной основой тилакоидных мембран растений [7]. В 36-ти часовом эксперименте по обесцвечиванию мы обнаружили суточную цикличность уровня некоторых ГЛ в контрольных колониях (рис. 25) и нарушение этой цикличности в экспериментальных колониях, однако достоверные изменения в профиле

молекулярных видов ГЛ после 36 ч отсутствовали. Был сделан предварительный вывод о том, что тепловой стресс влияет на баланс между прокариотическими и эукариотическими путями синтеза ГЛ в зооксантеллах. В 72-х часовом эксперименте мы обнаружили достоверные изменения в профиле молекулярных видов МГДГ после 48 ч теплового воздействия (рис. 32, А), которым соответствовало существенное нарушение структуры хлоропластов зооксантелл (рис. 31, Е, Ж, З). Весьма вероятно, что это нарушение уменьшает скорость биосинтеза в пластидах зооксантелл «прокариотических» молекулярных видов МГДГ, при этом уровень таких МГДГ уменьшается, а уровень «эукариотических» молекулярных видов МГДГ, соответственно, увеличивается.

В 72-х часовом эксперименте наблюдали достоверные изменения пропорции между молекулярными видами СХДГ (рис. 32, Б). Через 24 ч теплового воздействия снизилась доля ненасыщенных (с 25.07 ± 1.30 до $16.82 \pm 2.64\%$) и увеличивалась доля насыщенных (с 74.93 ± 1.30 до $83.18 \pm 2.64\%$) молекулярных видов СХДГ (HSD test, $p < 0.05$) (прил. 4, табл. 2).

Ранее было показано, что термическая устойчивость зооксантелл зависит от степени насыщенности СХДГ, которая была больше у термоустойчивого вида *D. trenchii*, чем у термически восприимчивого вида *Cladocodium* [120]. При повышении температуры степень насыщенности СХДГ у *D. trenchii* увеличивалась. Возможно, увеличение доли насыщенных молекулярных видов СХДГ в зооксантеллах *S. heterospiculata* (рис. 32, Б) также является способом адаптации этой альционии к повышенной температуре.

Через 48 часов теплового воздействия в некоторых зооксантеллах наблюдали признаки поздней стадии апоптоза. Число апоптозных тел на этой стадии увеличивалось (рис. 31, В). Ламеллы хлоропластов иногда обнаруживались, как «свободно плавающие» в цитоплазме клетки (рис. 31, О). Апоптозные тела меньшего, чем при разрушении хлоропластов, диаметра формировались при фрагментации деградирующих митохондрий (рис. 31, З). В ядрах происходили изменения структуры хроматина. Многие клетки имели деспирализованные хромосомы и конденсированный, а при позднем апоптозе – фрагментированный межхромосомный хроматин (рис. 31, К, Л). Ядерная оболочка некоторых клеток имела повреждения. В накопительном теле увеличивалось число электронно-плотных пятен разного диаметра (рис. 31, О). Липидные капли встречались редко и имели рыхлую гетерогенную структуру (рис. 31, П). Пластоглобулы были несколько крупнее и плотнее таковых в норме (рис. 31, Р).

В зооксантеллах экспериментальных колоний *S. heterospiculata* визуально было замечено увеличение числа пероксисом (рис. 31, Е). Известно, что в неблагоприятных условиях клетки зооксантелл подвержены окислительному стрессу в связи с большой выработкой АФК [25]. Наши данные проточной цитометрии подтвердили, что тепловое воздействие привело к

увеличению содержания АФК-положительных клеток зооксантелл с 30 до 63% после 72-х часов (рис. 28). Пероксисомы тесно связаны с хлоропластами и митохондриями. Одной из функций этих структур является утилизация молекул АФК, индуцируемые другими органеллами [196], например фотосинтетическим аппаратом зооксантелл при фотоингибировании [25]. Возможно, что именно поэтому количество АФК-положительных клеток зооксантелл возрастает одновременно с увеличением числа пероксисом в клетках симбионтов мягкого коралла.

Изменения в организме-хозяине коралла под действием теплового стресса

В процессе 72-х часового эксперимента по обесцвечиванию альционии *S. heterospiculata* существенные морфологические и физиологические изменения происходили не только в зооксантеллах, но и в клетках самого организма-хозяина. Ультраструктурные исследования клеток хозяина в гастродерме после воздействия повышенной температуры показали, что большинство их имело вакуолизированную цитоплазму (рис. 30, Е). Цитоплазма содержала крупные вакуоли, хорошо развитый аппарат Гольджи, мультивезикулярные тела, фагосомы и остаточные тела (рис. 30, Г, З). В части клеток были симбиофагосомы, содержащие деградирующие зооксантеллы (рис. 30, Е). Некрозные зооксантеллы, найденные в цитоплазме клеток хозяина, имели извилистую клеточную стенку (рис. 31, Л). Многие остаточные тела представляли собой фрагменты деградированных хлоропластов (рис. 31, Г, Л). В некоторых из них просматривались участки с параллельными мембранами тилакоидов (рис. 31, М).

По данным электронной микроскопии после 48 ч теплового воздействия в щупальцах полипов происходило разрушение структуры эпидермиса (рис. 27, Б). Он состоял из неупорядоченных скоплений гранулярных амебоцитов и утративших признаки дифференцировки эпителиально-мышечных клеток (рис. 27, Г). Эпителиально-мышечные клетки утратили контакты друг с другом и базальной мембраной, округлились, потеряли микроворсинки и миофибриллсодержащую часть цитоплазмы в виде структур с дезинтегрированными миофибриллами (рис. 27, Е, Ж). Большая часть эпителиальных клеток имела признаки деградации. Их цитоплазма содержала остатки секреторных гранул, аутофагосомы, остаточные тела. В фагосомных вакуолях и цитоплазме гранулярных амебоцитов были найдены некротизированные клетки эпидермиса (рис. 27, К). Они имели извилистую, плазматическую мембрану и содержали миелоноподобные тела (рис. 27, З).

Функциональная активность клеток организма-хозяина до и после теплового воздействия представлена на рисунке 33. Доля живых клеток организма-хозяина составила около 80% в течение 48-ми часов эксперимента, однако достоверно снизилась до 66% через 72 часа теплового воздействия. Апоптотические (аннексин-позитивные) клетки составили около 18% от всех клеток организма-хозяина в контроле и эксперименте, за исключением достоверного

снижения их концентрации до 7.7% (Z test, $p < 0.05$) в точке 48 ч, совпадающего с максимумом уровня АФК-положительных клеток. В начале эксперимента доля мертвых клеток составила не более 5% и постепенно увеличивалась до 16% к концу эксперимента.

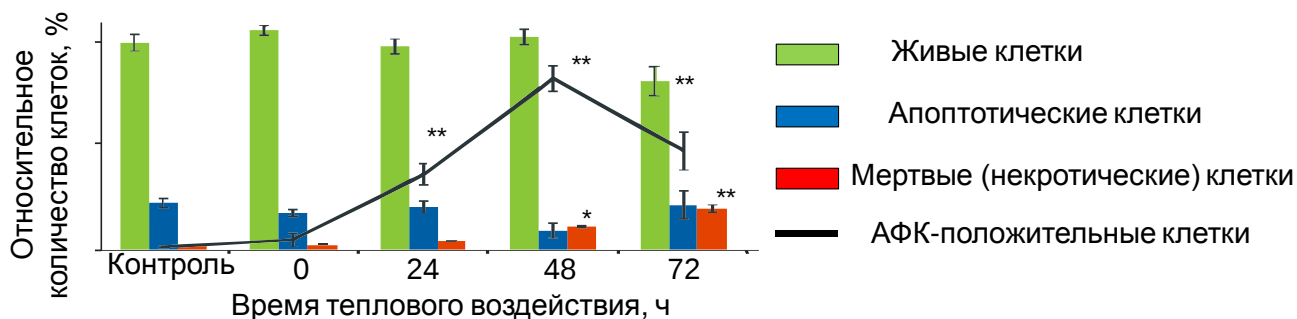


Рисунок 33 – Функциональная активность контрольных (27°C) и подверженных тепловому воздействию (33°C) клеток организма-хозяина альционарии *S. heterospiculata*. Уровни значимости отличий от контроля * (Z test, $p < 0.05$) и ** (Z test, $p < 0.01$) АФК-активные формы кислорода

В условиях теплового стресса заметные морфологические и физиологические изменения клеток организма-хозяина сопровождались существенными изменениями в составе липидов тканей полипов *S. heterospiculata*. Через 48 часов повторного эксперимента было отмечено достоверное уменьшение (HSD test, $p < 0.05$) количества общих липидов в тканях колонии коралла (рис. 34, А; прил. 4, табл. 1). В 72-х часовом эксперименте процентное содержание суммы ТГ и МАДАГ имело сложную зависимость от времени: возросло через 48 часов и снизилось вдвое после 72 часов (HSD test, $p < 0.05$) (рис. 34, Б). Уже в 36-ти часовом эксперименте была заметна тенденция к увеличению уровня восков в липидах *S. heterospiculata* в ответ на кратковременный температурный стресс (рис. 17, А, В). В 72-х часовом эксперименте уровень восков достоверно увеличился после 48 часов (HSD test, $p < 0.05$), но уменьшился к концу эксперимента (HSD test, $p < 0.05$) (рис. 34, Б; прил. 4, табл. 1).

Продолжительный температурный стресс также повлиял на содержание ФЛ в липидном экстракте мягкого коралла. В 36-ти часовом эксперименте по обесцвечиванию *S. heterospiculata* содержание общих ФЛ за 36 часов не изменилось, но в 72-х часовом эксперименте после 48 часов теплового воздействия количество ФЛ в общем липидном экстракте достоверно снизилось почти вдвое (HSD test, $p < 0.05$) (рис. 34, В). В пересчете на сухой вес тканей коралла количество ФЛ уменьшилось примерно в 10 раз через 48 часов теплового воздействия (HSD test, $p < 0.05$) (прил. 4, табл. 1).

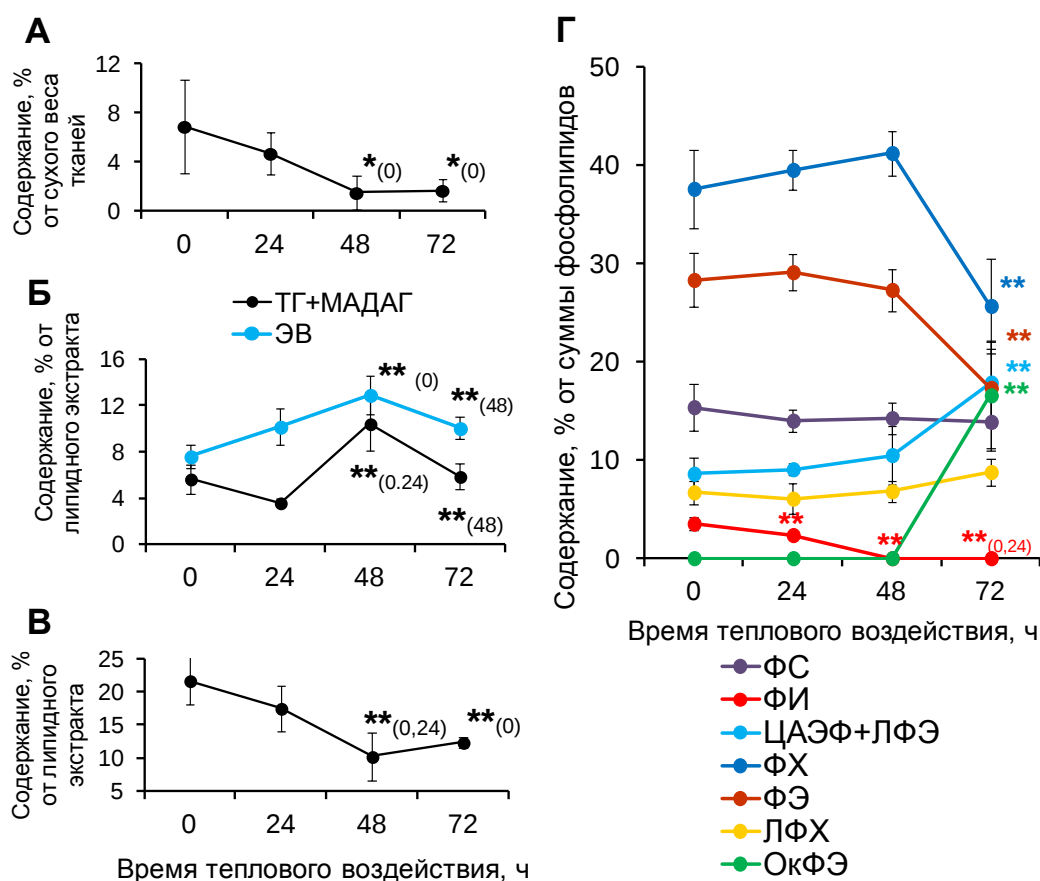


Рисунок 34 – Изменение содержания (А) общего липидного экстракта (% от сухого веса), (Б) восков (ЭВ), МАДАГ и ТГ (% от липидного экстракта); (В) ФЛ в липидном экстракте (%) и (Г) холин-, этаноламин-, серин- и инозитглицерофосфолипидов (ФХ, ФЭ, ФС и ФИ), лизо-ФЭ (ЛФЭ), лизо-ФХ (ЛФХ), церамидаминоэтилфосфоната (ЦАЭФ) и окисленного ФЭ (окФЭ) (% от ФЛ) в колониях *S. heterospiculata* при действии повышенной температуры (33°C) в течение 72 ч. В скобках над точкой графика указано время другой точки, в которой значение достоверно отличалось: * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$)

Среди ФЛ изученных колоний *S. heterospiculata* были обнаружены ФХ, ФЭ, ФИ, ФС, ЦАЭФ и ЛФХ. На 48-й час в липидах альционарии появился ЛФЭ, который в условиях ТСХ анализа не полностью отделился от ЦАЭФ (прил. 4, табл. 1). В 36-ти часовом эксперименте на 36 часов теплового воздействия окФЭ составил 23% от суммы ФЛ. В 72-х часовом эксперименте те же молекулярные виды окФЭ были обнаружены в следовых количествах после 48 ч теплового воздействия и в конце эксперимента составили в сумме $16.56 \pm 5.62\%$ от общих ФЛ (рис. 34, Г; прил. 4, табл. 1).

Было замечено существенное снижение концентраций двух основных классов полярных липидов (ФХ, ФЭ) после 72 ч эксперимента (HSD test, $p < 0.05$) (рис. 34, Г). Концентрация суммы ЦАЭФ и ЛФЭ достоверно увеличилась на 72 ч эксперимента (HSD test, $p < 0.05$), скорее всего за счет возрастания количества ЛФЭ (рис. 19). Фактор температуры не повлиял на концентрацию ФС и ЛФХ (рис. 34, Г). Наблюдались существенные изменения в содержании ФИ (HSD test, $p < 0.05$), его количество начало падать уже на 24-й час эксперимента, к 48-ми часам снизилось до следового уровня и было ниже уровня детектирования к концу

эксперимента (рис. 34, Г).

Основными молекулярными видами ФЭ были 18:1alk/20:4 ($62.58 \pm 0.97\%$) и 18:0alk/20:4 ($13.70 \pm 1.14\%$ от суммы ФЭ) (прил. 4, табл. 2). К 72 ч эксперимента уровень диацильных ФЭ достоверно увеличился (HSD test, $p < 0.05$) с 4.17 ± 2.70 до $11.50 \pm 4.38\%$, а уровень алкилацильных ФЭ соответственно уменьшился 95.31 ± 1.34 до $88.50 \pm 4.38\%$ от суммы ФЭ (HSD test, $p < 0.05$).

Основными молекулярными видами ФХ были 18:0alk/20:4 ($38.03 \pm 1.96\%$) и 16:0alk/20:4 ($18.50 \pm 1.59\%$ от суммы ФХ). К 72 ч эксперимента среди молекулярных видов ФХ достоверно увеличилась (HSD test, $p < 0.05$) концентрация алкилацильных ФХ с арахидоновой кислотой (с 60.55 ± 2.42 до $67.01 \pm 2.41\%$) и молекулярных видов ФХ, содержащих C_{24} ПНЖК (с 0.53 ± 2.42 до $2.71 \pm 0.63\%$), а концентрация ФХ с C_{16-18} ПНЖК уменьшилась с 24.37 ± 2.27 до $17.12 \pm 2.15\%$ (прил. 4, табл. 2).

Основными молекулярными видами ФИ были 18:0/22:4 ($30.69 \pm 2.57\%$) и 18:0/24:5 ($51.67 \pm 3.01\%$ от суммы ФИ), которые содержали n-6 ПНЖК. Остальные молекулярные виды ФИ содержали остатки n-3 ПНЖК. К 72 ч эксперимента отношение n-6/n-3 молекулярных видов ФИ увеличилось с 7.20 ± 1.56 до 11.72 ± 2.80 (HSD test, $p < 0.05$) (прил. 4, табл. 2).

Профили молекулярных видов ФС и ЦАЭФ были схожи с таковыми в 36-ти часовом эксперименте по обесцвечиванию *S. heterospiculata*. Также были обнаружены молекулярные виды окисленного фосфатидилсерина (окФС) с общей формулой $C_nH_mNO_{10}P$ и $C_nH_mNO_{12}P$. Содержание этих молекулярных видов в ФС на протяжении 48-ми часов было неизменным, однако на 72-й час достоверно возросло с 3.54 ± 0.79 до $5.78 \pm 1.18\%$ (HSD test, $p = 0.013$) (прил. 4, табл. 2).

Таким образом, в 72-х часовом эксперименте динамика молекулярных видов полярных липидов показала те же основные тенденции, которые были найдены в 36-ти часовом эксперименте (см. раздел 3.2.1.3, рис. 26). Кроме того, было подтверждено накопление восков на ранних стадиях обесцвечивания. Более продолжительный тепловой стресс вызвал изменения в составе молекулярных видов гликолипидов и заметное снижение уровня как запасных, так и структурных липидов, что хорошо согласуется с уменьшением уровня общих липидов, которое всегда отмечается в обесцвеченных колониях кораллов в естественной среде обитания [128, 130].

Связь биохимических и физиологических процессов при обесцвечивании кораллов

Сам по себе организм-хозяин коралла без зооксантелл устойчив к повышению температуры выше 32°C . В исследовании, где термическому стрессу подвергали культуры гастродермальных клеток актинии *Anemonia viridis* без зооксантелл, было показано, что сами

клетки организма-хозяина, не содержащие зооксантелл, устойчивы к повышению температуры до 37°C [197]. Однако симбиотические взаимоотношения с динофлагеллятами вносят свои коррективы. Образование симбиосомы – это фагоцитоз, в котором, благодаря механизмам подавления врожденного иммунитета организма-хозяина коралла [198], нормальное поглощение чужеродного материала приостанавливается на неопределенный срок [23]. При неблагоприятных условиях (повышенная температура и/или повышенная солнечная радиация, и/или загрязнения окружающей среды) в зооксантеллах происходит фотоокислительный стресс, в результате которого вырабатываются АФК. Если стресс имеет продолжительный характер, то антиоксидантная система симбионтов перестает справляться, и АФК накапливаются (рис. 28), что может быть причиной обнаружения организмом-хозяином чужеродных клеток симбионтов [23]. По данным микроскопии визуально отмечалось увеличение числа симбиофагосом, содержащие деградирующие зооксантеллы (рис. 30 Е, К). Можно предположить, что запускается врожденный иммунный ответ организма-хозяина и зооксантеллы уничтожаются в процессе аутофагии [23].

В процессе апоптоза мембранный липид ФС перемещается с внутреннего на внешний слой мембраны [199], поэтому присутствие ФС на поверхности мембраны используется, как один из маркеров апоптоза. Известно, что в процессе обесцвечивания кораллов для поддержания гомеостаза тканей происходит уничтожение поврежденных клеток посредством апоптоза [25]. При цитометрическом анализе физиологического состояния клеток организма-хозяина *S. heterospiculata* для обнаружения ФС мы использовали ФС-связывающий белок аннексин V. Интересно, что уровень аннексин-позитивных клеток организма-хозяина был высоким (около 18%) ещё до теплового воздействия, и даже снизился на 48-й час эксперимента (рис. 33). Скорее всего, этот результат является частично ложноположительным и может быть обусловлен меньшей вязкостью плазматических мембран и большей подвижностью ФС между внутренним и внешним слоями клеточных мембран в беспозвоночных морских животных, по сравнению с клеточными мембранами наземных высших животных [200].

Для людей организмы типа Cnidaria (морские анемоны, кораллы, медузы) являются одними из наиболее отдаленно родственных типов животных, и, тем не менее, они имеют те же клеточные механизмы, что и млекопитающие, связанные с врожденным иммунитетом [201]. При тепловом стрессе организм-хозяин книдарий пытается избавиться от патогенных динофлагеллят, и мы наблюдаем аналог воспалительного процесса. В нашем случае этому соответствует появление окФЭ к концу экспериментов (рис. 34, Г). Окисленные фосфолипиды могут нарушать структуру клеточных мембран, поскольку окисленные ацильные цепи обращены в водную среду, что делает их физически доступными для участия в сигнальных событиях, включая и распознавание макрофагами для утилизации поврежденных клеток [202].

Перекисное окисление фосфолипидов происходит при многих состояниях, связанных с воспалением [203], окисленные липиды обладают как про-воспалительным, так и противовоспалительным действиями [201]. Ферментативно окисленные ФЛ играют важную роль в раннем врожденном иммунитете, например, в защите от инфекций [204]. На 72 ч эксперимента резкое снижение уровня АФК (рис. 33), необходимого для окисления ФЛ [203, 204], может быть результатом использования АФК для синтеза окФЭ, содержание которого достигло 16% от ФЛ (рис. 34, Г), и синтеза окФС, уровень которого также увеличился (прил. 4, табл. 2).

В отсутствие замкнутой системы кровообращения, идентификация связанных с иммунитетом клеток, способных к фагоцитозу у животных типа Cnidaria, является сложной задачей. Клетки, которые обладают фагоцитарными способностями и экспрессируют ферменты, участвующие в фагоцитозе, были обнаружены у симбиотических книдарий; они экспрессируют ферменты, подобные тем, что используются иммунными клетками млекопитающих для фагоцитоза и деградации патогенов [201]. В тканях организма-хозяина *S. heterospiculata* появление окФЭ на 48-й час эксперимента совпало с увеличением количества симбиофагосом, содержащие деградирующие зооксантеллы, в гастродерме щупалец коралла (рис. 30, К) и гранулярных амёбоцитов в эпидермисе, содержащие мертвые клетки эпителия (рис. 27, К).

В какой-то момент времени поврежденные клетки становятся настолько многочисленны, что организм перестает справляться. На 72-й час эксперимента падает количество липидов на сухой вес (рис. 34, А), количество структурных липидов (ФЛ) на сухой вес коралла критически снижается в 10 раз (прил. 4, табл. 2). На 48-й час теплового воздействия происходит расслоение эпителиальной ткани альционарий (рис. 27 А, Б) и появляются клетки с некротическими признаками (рис. 27, К), а на 72 час эксперимента проточная цитометрия показала достоверное увеличение доли мертвых (некротических) клеток до 16% (рис. 33). Таким образом продолжительный температурный стресс (48-72 ч, 33°C) является губительным для организма коралла *S. heterospiculata*, а происходящие физиологические и биохимические нарушения оказываются необратимыми.

Коралловые рифы – это уникальная морская экосистема, а ее основой является удивительный метаорганизм коралла. Парадоксально, но симбиоз с динофлагеллятами для коралла в нормальных условиях является жизненно необходимым [21], и в то же время, при наступлении неблагоприятных условий окружающей среды, становится губительным, поскольку у коралла включается врожденный иммунный ответ, который при уничтожении патогенных зооксантелл способствует гибели всего организма.

3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для экстракции липидов и ТСХ использовали гексан, бензол, хлороформ, метанол квалификации ч.д.а.; для ВЭЖХ – гексан, 2-пропанол, HCOOH, аммиак, триэтиламин квалификации LC-MS grade (Sigma-Aldrich, США). ТСХ проводили на готовых пластинках Сорбфил ПТСХ-АФ-В, 10 см × 10 см (Россия). Стандарты триглицеридов, глико- и фосфолипидов получены от фирмы “Avanti Polar Lipids Inc.” (США). Тридецилпальмитат (х. ч.) получен от КНПО Диагностикум (Россия).

Объекты исследования

Колонии мягкого коралла *Sinularia siaesensis* van Ofwegen, 2008 собирали водолазным способом на глубинах 4–6 м в заливе Нячанг (Nha Trang) (Южно-Китайское море). Кораллы помещали в танк со свежей морской водой, транспортировали в лабораторию в течение 2 ч, тщательно очищали и немедленно использовали для экстракции липидов. Для анализа липидов использовали четыре разные колонии, в таблицах представлены средние значения от четырёх измерений, отклонения не превышали 10% от средней величины.

Колонии мягкого коралла *Sinularia heterospiculata* Verseveldt, 1970 (10 см в высоту) выращивали в течение 1 года при 27°C в аэрированном резервуаре с морской водой (500 л). Колонии коралла освещали белыми флуоресцентными лампами (National, FL20SS-N/18) в дневное время (12 ч). Из трех колоний *S. heterospiculata* были выделены чистые симбиотические микроводоросли, содержащие динофлагелляты *Cladocodium* C1 и *Cladocodium* C3.

Колонии зоантарии *Palythoa tuberculosa* (Esper, 1805) и рифообразующего коралла *Acropora cerealis* (Dana, 1846) собирали водолазным способом на глубинах 4–6 м в заливе Нячанг, Южно-Китайское море (50-я экспедиция НИС «Академик Опарин», 2018 г.). Кораллы помещали в танк со свежей морской водой, транспортировали в лабораторию в течение 2 ч, тщательно очищали и немедленно использовал для экстракции липидов. Для анализа липидов использовали три разные колонии, в таблицах представлены средние значения от трех измерений со стандартным отклонением. Из трех колоний *P. tuberculosa* были выделены чистые симбиотические микроводоросли, содержащие динофлагелляты *Durusdinium trenchii*, *Cladocodium* C1 и *Cladocodium* C3.

Выделение фракции чистых зооксантелл

Чистые зооксантеллы из кораллов выделяли согласно работе [123] с некоторой модификацией. Механическим способом, используя струю воды под высоким давлением,

буфером EDTA (5 ммоль, чистая морская вода) с поверхности колонии коралла выбивали симбиосомы, содержащие зооксантеллы. Для отделения симбионтов и симбиосом от животной ткани, полученный гомогенат фильтровали через газовую ткань (размер ячейки 180 мкм), а затем центрифугировали 5 минут при $1000 \times g$. Осадок суспендировали в буфере, гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым ротором при 6000 оборотах/мин для высвобождения зооксантелл из симбиосом и снова центрифугировали 5 минут при $1000 \times g$. Супернатант отбрасывали, суспендировали в очищенной морской воде с добавлением тритона X-100 (0.02% v/v) и мягко перемешивали в течение 5 минут. Далее полученную суспензию центрифугировали 3 минуты при $950 \times g$, супернатант отбрасывали. Оставшийся осадок снова суспендировали в буфере, хорошо перемешивали, фильтровали через газовую ткань (размер ячейки 40 мкм) и центрифугировали 5 минут при $1500 \times g$. Контрольная проверка на световом микроскопе (ZEISS AxioStar plus, Германия, $200 \times$) показала, что на данном этапе клеточный материал животного полностью удаляется из суспензии зооксантелл. Далее, полученный осадок, содержащий чистые зооксантеллы, промывали дважды буфером и последовательно центрифугировали при $1500 \times g$ в течение 5 минут и при $2000 \times g$ в течение 10 минут. Конечный осадок с зооксантеллами суспендировали, центрифугировали при $4000 \times g$ в течение 4 минут, супернатант отбрасывали, а осадок, содержащий фракцию чистых зооксантелл, использовали для приготовления экстракта липидов.

Первый эксперимент по обесцвечиванию кораллов при повышенной температуре

Из основного резервуара (500 л) в два одинаковых аквариума (40 л) перенесли двадцать четыре колонии *S. heterospiculata* (по 12 колоний в каждый). Эти аквариумы поместили вплотную к основному резервуару при тех же условиях освещения и аэрации. Один аквариум оставили при 27°C (контрольные колонии). Температуру в другом аквариуме повышали с 27 до 33°C (экспериментальные колонии), используя автоматический термостат ($\pm 0.5^{\circ}\text{C}$, IC Thermostat, EX-003) в течение 4 часов. Когда была достигнута температура 33°C (0 ч), а также через 12, 24 и 36 ч, каждый раз из каждого аквариума отбирали по три колонии для анализа на содержание хлорофилла и состава липидов.

Повторный эксперимент по обесцвечиванию кораллов при повышенной температуре

В качестве контроля были взяты 4 колонии коралла из основного резервуара (500 л, 27°C) для анализа на количество хлорофилла, липидов и цитометрического анализа клеток. Шестнадцать колоний *S. heterospiculata* поместили в один аквариум с большим объемом (400 л). Используя автоматический термостат ($\pm 0.5^{\circ}\text{C}$, IC Thermostat, EX-003) и нагреватели аквариума, температуру в аквариуме повышали от 27 до 33°C в течение 6 часов. Затем в точках

0, 24, 48 и 72 ч термического воздействия отбирали по четыре колонии коралла для анализа на количество хлорофилла, липидов и цитометрического анализа клеток. Контрольные образцы колоний и на 48-й час эксперимента исследовали методом электронной микроскопии.

Флюороцитометрический анализ клеток коралла

Суспензию клеток коралла (клетки организма-хозяина, зооксантеллы и симбиосомы) получали механическим выбиванием из поверхностного слоя клеток колонии коралла, используя струю воды под высоким давлением (5 мМ буфер ЕДТА, чистая морская вода). Суспензии клеток каждой колонии разделили на две части.

Одну часть центрифугировали при $500 \times g$ в течение 5 минут, суспендировали в 90 мкл аннексин-связывающего буфера (искусственная морская вода без кальция и магния (CMFSW), содержащая 2.5 мМ CaCl_2). Клетки окрашивали 10 мкл раствором аннексина V-FITC (Invitrogen, США) (для обнаружения апоптотических клеток) и SYTOX™ Red (Invitrogen) в конечной концентрации 5 нМ (для окрашивания ядер мертвых клеток с поврежденными мембранами) и инкубировали в течение 45 мин при комнатной температуре в темноте. Затем суспензию клеток разбавляли 150 мкл аннексин-связывающего буфера, центрифугировали, как описано ранее, и суспендировали в 250 мкл аннексин-связывающего буфера с последующей проточной цитометрией.

Вторую часть центрифугировали при $500 \times g$ в течение 5 минут и повторно суспендировали в 100 мкл CMFSW. 2,7-дихлордигидрофлуоресцеиндиацетат (H2DCFDA) (Sigma-Aldrich, США) (используется для обнаружения активных форм кислорода) в конечной концентрации 10 мкМ и SYTOX™ Red в конечной концентрации 5 нМ добавляли к клеткам и инкубировали при комнатной температуре в течение 45 мин в темноте. Затем суспензию клеток разбавляли 150 мкл CMFSW, центрифугировали, как описано, и повторно суспендировали в 250 мкл CMFSW с последующей проточной цитометрией.

Цитометрический анализ проводили в течение 20 минут после окрашивания с использованием проточного цитометра CytoFLEX (Beckman-Coulter, Brea, CA, USA) и программного обеспечения CytExpert (версия 2.3, Beckman-Coulter). Полученные файлы FCS были проанализированы с помощью Kaluza Analysis Software v.2.1 (Beckman-Coulter). Одиночные события (более 90% от общего числа событий в каждом образце) определяли с помощью треугольного стробирования на FSC-A против графика FSC-H, чтобы исключить агрегаты клеток из следующего анализа. Отдельные события, обладающие аутофлуоресценцией при возбуждении на 488 нм и излучении при 690/50 BP, рассматривались, как хлорофилл-положительные клетки водорослей (зооксантеллы), тогда как другие клетки рассматривались, как клетки организма-хозяина. Доля хлорофилл-положительных клеток представляли в

процентах от общего числа отдельных событий. H2DCFDA-позитивные клетки (как симбионтов, так и организма-хозяина) или аннексин-позитивные клетки организма-хозяина детектировали при возбуждении на 488 нм и излучении при 525/40 ВР. Sytox Red-позитивные клетки организма-хозяина детектировали при возбуждении на 638 нм и излучении при 660/10 ВР.

Электронная микроскопия

Для исследования влияния теплового стресса на морфологию клеток симбионтов и организма-хозяина взяли образцы кораллов после 48 часов теплового воздействия. Контрольные образцы были взяты из колоний, выращенных при температуре 27°C. Вырезали примерно 5 мм² образца ткани коралла, фиксировали в 2.5% глутаральдегиде на 0.05 М какодилатном буфере при pH 7.5 в течение 24 часов при 4 °C. После фиксации материал промывали в буфере и в течение 1 часа фиксировали в 1% OsO₄ на какодилатном буфере. Декальцинация проводилась в течение 2 дней в растворе аскорбиновой кислоты [205]. Образцы обезвоживали в восходящих концентрациях этанола и ацетона и помещали в аралдит. Срезы резали стеклянными ножами на ультратоме Ultracut UC6 (Leica). Ультратонкие (60–75 нм) срезы собирали на медных сетках, после окрашивания уранилацетатом и цитратом свинца исследовали с использованием просвечивающего электронного микроскопа Carl Zeiss Libra 120 или сканирующего электронного микроскопа Carl Zeiss Sigma 300 Vp (STEM-детектор). Работа выполнена в «Дальневосточном центре электронной микроскопии» (Национальный научный центр морской биологии ДВО РАН, Владивосток, Россия).

Содержание хлорофилла

Хлорофилл (*a* и *b*) экстрагировали ацетоном (10 мл) из свежих тканей коралла (0.5–1 г) в течение часа при 4°C. Количественный анализ хлорофилла *a* при 663 нм и хлорофилла *b* при 645 нм проводили на спектрофотометре Shimadzu UV-2600 (Япония). Содержание (мкг/г) рассчитывали, как описано в работе [206].

Экстракция липидов

Липиды колоний кораллов и зооксантелл получали по модифицированному протоколу Фолча [138]. Примерно 5–10 г влажной ткани коралла измельчали на кусочки размером 1–3 мм и интенсивно гомогенизировали (диспергатор IKA Ultra Turrax (Германия)) в 30 мл смеси хлороформ–метанол, 1:2, фильтровали, остаток экстрагировали 30 мл смеси хлороформ–метанол, 2:1 в течение 4 ч при 4°C и затем фильтровали. Экстракты объединяли, смешивали с 30 мл хлороформа и 35 мл воды и оставляли расслаиваться на ночь при 4°C. Затем нижний слой

отделяли, упаривали, общие липиды растворяли в небольшом количестве хлороформа и хранили при -40°C . Во втором эксперименте по обесцвечиванию коралла сухой вес тканей колонии определяли гравиметрически: остаток тканей на фильтре сушили при комнатной температуре до постоянного веса и взвешивали.

Свежеприготовленные фракции зооксантелл (около 0.5 г) гомогенизировали в 2 мл смеси хлороформ–метанол, 1:2, отфильтрованы и остаток был дважды экстрагирован 1 мл смеси хлороформ–метанол. Экстракты объединяли, добавляли 3 мл хлороформа и 3.5 мл воды и оставляли расслаиваться на ночь при 4°C . Затем нижний слой отделяли, упаривали, общие липиды растворяли в небольшом количестве хлороформа и хранили при -40°C .

Анализ состава ЖК

Для получения метиловых эфиров ЖК (МЭЖК) к раствору 5 мг липидов в 0.2 мл бензола добавляли 1% раствор серной кислоты в метаноле (1 мл), выдерживали 2 часа при 80°C , охлаждали, добавляли 2 мл воды и продукты реакции экстрагировали гексаном (2 мл) дважды. МЭЖК очищали препаративной ТСХ в бензоле на пластинах с силикагелем. Состав МЭЖК анализировали на газовом хроматографе Shimadzu GC-2010 с пламенно-ионизационным детектором при температуре колонки 210°C , испарителя – 250°C , детектора – 240°C . Использовали капиллярную кварцевую колонку Equity-5 (0.25 мм $\times$ 30 м, толщина фазы 0.25 мкм, Supelco, США). Идентификацию МЭЖК проводили методом ГХ–МС на приборе Shimadzu GCMS-2010 (ионизация электронным ударом, 70 eV) в градиенте температуры колонки (160°C (1 мин) – $2^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ – 250°C (20 мин)). Температура испарителя и интерфейса – 250 и 240°C , соответственно. Использовали капиллярную кварцевую колонку SPB-5ms (0.25 мм $\times$ 30 м, толщина фазы 0.25 мкм, Supelco, США). Из МЭЖК были получены 4,4'-диметиоксазолиновые производные (DMOX), как описано в работе [207]. Структуру ЖК подтверждали по масс-спектрам соответствующих DMOX производных, которые анализировали методом ГХ–МС в градиенте температуры колонки (210°C – $3^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ – 270°C (40 мин)). Температура испарителя – 300°C , интерфейса – 270°C .

Анализ восков

К аликвоте общих липидов добавляли внутренний стандарт (ЭВ 13:0/16:0, 480 мкг/мл), затем воски выделяли препаративной ТСХ в системе гексан–бензол, 70:30, растворяли в хлороформе и хранили при -18°C . Количественный анализ молекулярных видов восков осуществляли методом ГЖХ на приборе Shimadzu GC-2010 (Япония) с пламенно-ионизационным детектором (температура 340°C) и капиллярной кварцевой колонкой Equity-5 (0.25 мм $\times$ 30 м, толщина фазы 0.25 мкм, Supelco, США) в токе гелия (28.4 см/сек), рабочее

давление 1.2 атм., делитель пробы 1:30. Анализ проводили при температуре испарителя 320°C, в градиенте температуры колонки от 240 до 300°C со скоростью 20°C/мин и от 300 до 340°C со скоростью 4°C/мин. Структуру молекулярных видов восков определяли методом ГХ–МС на приборе Shimadzu GCMS QP5050A (Япония), используя капиллярную кварцевую колонку SPB-5ms (0.25 мм × 30 м, толщина фазы 0.25 мкм, Supelco, США) при температурных условиях, указанных выше. Температура интерфейса 240°C, ионизация электронным ударом (70 эВ). Масс-спектрометрические данные интерпретировали согласно работе [142].

Анализ ТГ и МАДАГ

Суммарную фракцию ТГ и МАДАГ из липидов кораллов и фракцию ТГ из липидов зооксантелл выделяли препаративной ТСХ в бензоле, растворяли в хлороформе и хранили при –18°C. Количество ТГ и МАДАГ в общих липидах определяли денситометрией изображения ТСХ пластинок с помощью программы Сорбфил Видеоденситометр (Россия) с построением калибровочной кривой по внешнему стандарту [76]. Молекулярные виды ТГ и МАДАГ разделяли сверхкритической флюидной хроматографией на приборе Shimadzu Nexera UC (Япония) на двух последовательно соединенных колонках Shim-pack XR-ODSII (2.0 мм × 150 мм) (Япония) при изократическом элюировании (0.6 мл/мин) сверхкритическим CO₂ с добавкой 35% метанола, максимальное давление колонки 50 МПа и температура колонки 17°C. Для определения количества молекулярных видов ТГ и МАДАГ использовали детектор по светорассеиванию Shimadzu ELSD LT II (Япония) (температура испарительной трубки 40°C, давление газа распылителя (N₂) 0.4 МПа). Для определения структуры этих веществ использовали жидкостной тройной квадрупольный масс-спектрометр Shimadzu LCMS-8060 (Япония), при этом к потоку элюента из хроматографической колонки с помощью насоса через постколоночный микросмеситель добавляли HCOOH (0.1% в MeOH) со скоростью 0.2 мл/мин. Анализ проводили в режиме химической ионизации при атмосферном давлении (APCI) и регистрации сигналов положительных ионов. Сканирование осуществляли в диапазоне m/z 300–1200. Температура интерфейса 350°C, температура линии десольватации 200°C. Скорости подачи испаряющего (N₂), нагревающего (воздух) и осушающего (N₂) газов (nebulizing, heating, and dry gases) составили 3, 10 и 10 л/мин, соответственно. Интерпретацию масс-спектров проводили в соответствии со схемами фрагментации, опубликованными ранее [143].

Анализ фосфорсодержащих липидов и гликолипидов

Общее количество фосфо- и фосфолипидов и отдельных классов этих липидов определяли на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Япония) по содержанию неорганического фосфора после сжигания с HClO₄, как опубликовано ранее [208]. Количество гликолипидов

определяли методом ТСХ в системе хлороформ–метанол–аммиак–бензол (65:30:5:10, по объему) с последующей денситометрией [76] и калибровкой по внешнему стандарту гликолипидов.

Фракцию окФЭ получали двумерной препаративной ТСХ на силикагеле в первом направлении в системе хлороформ–метанол–аммиак–бензол, 65:35:6:10 и во втором направлении в системе хлороформ–метанол–ацетон–уксусная кислота–вода–бензол, 70:30:5:4:1:10. Мягкий кислотный гидролиз фракции окФЭ проводили над парами концентрированной HCl в течение 1 минуты, полученную реакционную смесь анализировали методом ВЭЖХ–МС, как описано ниже.

Молекулярные виды фосфорсодержащих липидов и гликолипидов, входящие в состав общих липидов, разделяли на колонке Shim-Pack diol (4.6 мм × 50 мм, размер частиц 5 мкм) (Shimadzu, Япония) с использованием жидкостного хроматографа Shimadzu Nexera-e. В качестве элюента использовали систему А (2-пропанол–гексан–H₂O–HCOOH–NH₃–H₂O–Et₃N, 28:72:1.5:0.1:0.05:0.02) и систему Б (2-пропанол–H₂O–HCOOH–NH₃–H₂O–Et₃N, 100:1.5:0.1:0.05:0.02). Содержание системы Б программировали от 0 до 20% (7 мин), от 20 до 100% (5 мин), 100% (5 мин), от 100 до 0% (0.1 мин) и 0% (10 мин). Скорость элюирования составила 0.2 мл/мин. Для детектирования липидов использовали жидкостной tandemный масс-спектрометр высокого разрешения Shimadzu LCMS-IT-TOF (ионная ловушка + времяпролетный масс-анализатор) (Япония). Анализ проводили с ионизацией электрораспылением (ИЭР, ESI) при одновременной регистрации сигналов положительных и отрицательных ионов. Сканирование осуществляли в диапазоне m/z 100–1200. Потенциал в источнике составлял –3.5 кВ при образовании отрицательных ионов и 4.5 кВ при образовании положительных ионов. Температура ионного источника 250°C, давление газа-осушителя (N₂) – 200 кПа, поток газораспылителя (N₂) – 1.5 л/мин. В соударительной ячейке масс-спектрометра использовали аргон (0.003 Па). Процентное содержание индивидуальных молекулярных видов для каждого класса гликолипидов и фосфорсодержащих липидов рассчитывали по площади пиков отрицательных ионов $[M-H]^-$, кроме холинглицерофосфолипидов, содержание которых определяли по площади пиков положительных ионов $[M-CH_3]^+$. Идентификацию молекулярных видов проводили, как описано ранее [76].

Статистическая обработка данных

В таблицах представлены средние значения от трех или четырёх измерений содержаний липидных и других показателей со стандартным отклонением. Исходные данные использовались после оценки однородности отклонений (критерий Левена) и нормальности распределения данных (критерий Шапиро-Уилка).

При исследовании восков различных групп кораллов многофакторный анализ проводился с использованием программы Primer 6. Содержание насыщенных и ненасыщенных ЭВ с четным и нечетным числом атомов углерода использовали в качестве четырех переменных (прил. 2). Анализ методом главных компонент основывался на индексе подобия Брея-Кертиса; исходные данные были преобразованы путем извлечения квадратного корня.

Для значений содержания хлорофилла, ЖК, количеств отдельных классов липидов и молекулярных видов липидов провели двухфакторный дисперсионный анализ (2 ways-ANOVA, факторы: температура и время). Для определения значимых отличий между выборками использовали *post-hoc* тест HSD. Порогом значимости считали $p < 0.05$. Анализ данных проводили с помощью программы STATISTICA 6 (StatSoft, USA).

Данные проточной цитометрии были получены для четырех биологических повторов. Для каждого образца, по меньшей мере, 50000 отдельных событий были проанализированы с помощью проточной цитометрии. Достоверность различий процента живых, мертвых, апоптотических и АФК-положительных клеток между образцами в нулевой точке эксперимента и последующих проводили с использованием Z-теста в программном обеспечении MS Excel 2013 (Microsoft Corporation, США). Значение $p < 0.05$ считалось статистически значимым.

4. ВЫВОДЫ

1. Исследованы липидомы коралловых полипов из отрядов Alcyonacea (*Sinularia seaesensis* и *S. heterospiculata*), Zoantharia (*Palythoa tuberculosa*) и Scleractinia (*Acropora cerealis*), а также их симбионтов; структурно охарактеризован 381 молекулярный вид липидов и установлено их содержание.
2. Показано, что липидом представителя каждого отряда имеет характерные черты. В липидоме *P. tuberculosa* содержатся триацилглицеролы с жирной кислотой 22:5, фосфатидилэтаноламины с неметиленразделёнными C₂₄ жирными кислотами и N-метилцерамидаминоэтилфосфонаты; в липидоме *A. cerealis* – триацилглицеролы с жирными кислотами 18:3 и 22:6 и гидроксильированные церамидаминоэтилфосфонаты; в липидах *S. seaesensis* и *S. heterospiculata* – фосфатидилсерина и фосфатидилинозитолы с C₂₄ ПНЖК.
3. Установлено, что профиль молекулярных видов восков, зависит от наличия зооксантелл и таксономического положения этих животных. Кораллы без симбионтов содержат больше восков с ацильными и алкильными группами бактериального происхождения. В липидах рифообразующих кораллов (подкласс Hexacorallia) больше мононенасыщенных восков, чем в мягких кораллах (подкласс Octocorallia).
4. Показано, что в зооксантеллах, в отличие от профиля бетаиновых липидов, профиль гликолипидов не зависит от таксономического положения организма-хозяина и определяет температурную устойчивость симбионтов. Термоустойчивый вид зооксантелл *Duruzdinium trenchii* содержит более насыщенные сульфохиновозилдиацилглицериды, менее насыщенные галаколипиды и имеют более высокое отношение дигалактозилдиацилглицеридов к моногалактозилдиацилглицеридам, чем термочувствительные виды *Cladocopium* C1/C3.
5. Установлено, что в зооксантеллах существуют два разных направления биосинтеза и использования триацилглицеридов (ТГ). Одна часть ТГ может синтезироваться из гликолипидов в хлоропластах, другая – *de novo* в эндоплазматическом ретикулуме и формировать общий пул ТГ симбиотических организмов *P. tuberculosa* и *S. heterospiculata*.
6. Показано, что на ранней стадии обесцвечивания *S. heterospiculata* потеря зооксантелл уменьшает уровень хлорофилла и гликолипидов, сопровождается падением уровня запасных липидов триацилглицеридов и моноалкилдиацилглицеридов, не влияет на общий уровень фосфолипидов и увеличивает синтез восков. Повреждения хлоропластов зооксантелл нарушают естественную суточную цикличность уровня некоторых

гликолипидов и баланс между биосинтезом «прокариотических» и «эукариотических» видов галактолипида моногалактозилдиацилглицерида.

7. Показано, что при глубоком обесцвечивании *S. heterospiculata* падает содержание восков и фосфолипидов, происходят существенные изменения в профиле молекулярных видов структурных липидов (холин -, этаноламин – и инозитглицерофосфолипидов), появляются лизо- и окисленные формы фосфатидилэтаноламина. Клетки поврежденных зооксантелл уничтожаются организмом-хозяином посредством аутофагии, а также увеличивается количество гранулярных амебоцитов в эпидермисе, что в конечном итоге приводит к гибели коралла.

ПЕРЕЧЕНЬ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

DMOX – диметилноксазолиновые производные метиловых эфиров ЖК

m/z – соотношение массы иона к его заряду

MS² (MS/MS) – тандемный масс-спектрометрический анализ

ZS и ZP – фракции зооксантелл, выделенные из альционии *S. heterospiculata* и зоантарии *P. tuberculosa*, соответственно

АФК, ROS – активные формы кислорода (reactive oxygen species)

БЛ – бетаиновые липиды

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ВЭЖХ-МС – высокоэффективная жидкостная хроматография - масс-спектрометрия

ГЖХ – газо-жидкостная хроматография

ГЛ – гликолипиды

ГХ-МС – газовая хроматография-масс-спектрометрия

ДАГ – диацилглицерол

ДГДГ – дигалактозилдиацилглицерол

ДГКХ – диацилглицерилкарбоксигидроксиметилхолин

ДГТА – диацилглицерилгидроксиметил-*N,N,N*-триметил-бета-аланин

ДГТС – диацилглицерил-*N*-триметилгомосерин

ЖК – жирные кислоты

ИЭР, ESI – МС-режим ионизации электрораспылением

ЛФС – лизо-ФС

ЛФХ – лизо-ФХ

ЛФЭ – лизо-ФЭ

МАДАГ – моноалкилдиацилглицеролы

МГДГ – моногалактозилдиацилглицерол

МЭЖК – метиловые эфиры жирных кислот

НЛ – нейтральные липиды

НМВ/ВМВ – молекулярные виды гликолипидов с низким/высоким молекулярным весом

окФС – окисленное производное ФС

окФЭ – окисленное производное ФЭ

ПЛ – полярные липиды

ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты

СМ, СР, АМ – группы исследуемых симбиотических мягких, симбиотических рифообразующих и асимбиотических мягких кораллов, соответственно

СТ – стерины

СХДГ – сульфохиновозилдиацилглицерол

ТГ – триацилглицеролы

ТПЖК – тетракозаполиеновые жирные кислоты

ТСХ – тонкослойная хроматография

ФИ – инозитглицерофосфолипиды

ФК – фосфатидная кислота

ФЛ – фосфорсодержащие липиды

ФС – серинглицерофосфолипиды

ФХ – холинглицерофосфолипиды

ФЭ – этаноламинглицерофосфолипиды

ХИАД, АРСІ - МС – режим химической ионизации при атмосферном давлении

ЦАЭФ – церамидаминоэтилфосфонат

ЦМАЭФ – церамидметиламиноэтилфосфонат

ЭВ – воски

ЭР – эндоплазматический ретикулум

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dodds L.A., Black K.D., Orr H. and Roberts J.M. Lipid biomarkers reveal geographical differences in food supply to the cold-water coral *Lophelia pertusa* (Scleractinia) // Mar. Ecol.-Prog. Ser. – 2009. – Vol. 397. – P. 113-124.
2. Spalding M.D. and Grenfell A.M. New estimates of global and regional coral reef areas // Coral Reefs – 1997. – Vol. 16. – P. 225-230.
3. Yamashiro H., Oku H., Higa H., Chinen I. and Sakai K. Composition of lipids, fatty acids and sterols in Okinawan corals // Comp. Biochem. Phys. B – 1999. – Vol. 122. – P. 397-407.
4. Хотимченко С.В. Липиды морских водорослей-макрофитов и трав. – Владивосток: Дальнаука, 2003. – с. 234.
5. Imbs A.B., Maliotin A.N., Huyen L.V. and Long P.Q. Study of fatty acid composition of 17 coral species of Vietnam // Vietnamese Journal of Science and Technology – 2005. – Vol. 43. – P. 84-91.
6. Hamoutene D., Puestow T., Miller-Banoub J. and Wareham V. Main lipid classes in some species of deep-sea corals in the Newfoundland and Labrador region (Northwest Atlantic Ocean) // Coral Reefs – 2008. – Vol. 27. – P. 237-246.
7. Awai K., Matsuoka R. and Shioi Y. Lipid and fatty acid compositions of *Symbiodinium* strains // Proceedings of the 12th International Coral Reef Symposium. Cairns, Australia, 2012 – P. 6A
8. Imbs A.B., Latyshev N.A., Dautova T.N. and Latypov Y.Y. Distribution of lipids and fatty acids in corals by their taxonomic position and presence of zooxanthellae // Mar. Ecol.-Prog. Ser. – 2010. – Vol. 409. – P. 65-75.
9. Лам Ч.Н., Нгуен Х.К., Стехов В.Б. and Светашев В.И. Фосфолипиды и жирные кислоты роговых кораллов // Биол. моря. – 1981. – Vol. 6. – P. 44-47.
10. Латышев Н.А., Безуглов В.В. and Когтев Л.С. Некоторые компоненты каскада арахидоновой кислоты из коралла *Lobophytum cornatum* // Биол. моря – 1986. – Vol. – P. 65-71.
11. Treignier C., Grover R., Ferrier-Pages C. and Tolosa I. Effect of light and feeding on the fatty acid and sterol composition of zooxanthellae and host tissue isolated from the scleractinian coral *Turbinaria reniformis* // Limnol. Oceanogr. – 2008. – Vol. 53. – P. 2702-2710.
12. Imbs A.B. and 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. – P. 41-53.
13. Mueller C.E., Larsson A.I., Veuger B., Middelburg J.J. and van Oevelen D. Opportunistic feeding on various organic food sources by the cold-water coral *Lophelia pertusa* // Biogeosciences – 2014. – Vol. 11. – P. 123-133.
14. Papina M., Meziane T. and van Woesik R. Symbiotic zooxanthellae provide the host-coral *Montipora digitata* with polyunsaturated fatty acids // Comp. Biochem. Phys. B – 2003. – Vol. 135. – P. 533-537.
15. Rodrigues L.J., Grottoli A.G. and Pease T.K. Lipid class composition of bleached and recovering *Porites compressa* Dana, 1846 and *Montipora capitata* Dana, 1846 corals from Hawaii // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. – 2008. – Vol. 358. – P. 136-143.
16. Seemann J., Sawall Y., Auel H. and Richter C. The use of lipids and fatty acids to measure the trophic plasticity of the coral *Stylophora subseriata* // Lipids – 2013. – Vol. 48. – P. 275-286.
17. Teece M.A., Estes B., Gelsleichter E. and Lirman D. Heterotrophic and autotrophic assimilation of fatty acids by two scleractinian corals, *Montastraea faveolata* and *Porites astreoides* // Limnol. Oceanogr. – 2011. – Vol. 56. – P. 1285-1296.
18. Spener F., Lagarde M., A. G. and Record M. Editorial: what is lipidomics? // Eur. J. Lipid Sci. Technol. – 2003. – Vol. 105. – P. 481-482.

19. Meikle P.J., Wong G., Barlow C.K. and Kingwell B.A. Lipidomics: potential role in risk prediction and therapeutic monitoring for diabetes and cardiovascular disease // *Pharmacol. Ther.* 2014. – Vol. 143. – P. 12-23.
20. Wood P.L., Unfried G., Whitehead W., Phillipps A. and Wood J.A. Dysfunctional plasmalogen dynamics in the plasma and platelets of patients with schizophrenia // *Schizophr. Res.* 2015. – Vol. 161. – P. 506-510.
21. Muscatine L. Glycerol excretion by symbiotic algae from corals and tridacna and its control by the host // *Science* – 1967. – Vol. 156. – P. 516-519.
22. Allemand D. and Furla P. How does an animal behave like a plant? Physiological and molecular adaptations of zooxanthellae and their hosts to symbiosis // *C. R. Biol.* – 2018. – Vol. 341. – P. 276-280.
23. Davy S.K., Allemand D. and Weis V.M. Cell biology of cnidarian-dinoflagellate symbiosis // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2012. – Vol. 76. – P. 229-261.
24. Pasaribu B., Li Y.S., Kuo P.C., Lin I.P., Tew K.S., Tzen J.T.C., Liao Y.K., Chen C.S. and Jiang P.L. The effect of temperature and nitrogen deprivation on cell morphology and physiology of *Symbiodinium* // *Oceanologia* 2016. – Vol. 58. – P. 272-278.
25. Weis V.M. Cellular mechanisms of Cnidarian bleaching: stress causes the collapse of symbiosis // *J. Exp. Biol.* – 2008. – Vol. 211. – P. 3059-3066.
26. Tchernov D., Gorbunov M.Y., de Vargas C., Yadav S.N., Milligan A.J., Haggblom M. and Falkowski P.G. Membrane lipids of symbiotic algae are diagnostic of sensitivity to thermal bleaching in corals // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2004. – Vol. 101. – P. 13531-13535.
27. Kazandjian A., Shepherd V.A., Rodriguez-Lanetty M., Nordemeier W., Larkum A.W.D. and Quinnell R.G. Isolation of symbiosomes and the symbiosome membrane complex from the zoanthid *Zoanthus robustus* // *Phycologia* – 2008. – Vol. 47. – P. 294-306.
28. Wakefield T.S., Farmer M.A. and Kempf S.C. Revised description of the fine structure of in situ "Zooxanthellae" genus *Symbiodinium* // *Biol. Bull.* – 2000. – Vol. 199. – P. 76-84.
29. Davy S.K. and Turner J.R. Early development and acquisition of zooxanthellae in the temperate symbiotic sea anemone *Anthopleura ballii* (Cocks) // *Biol. Bull.* – 2003. – Vol. 205. – P. 66-72.
30. Babcock R.C., Bull G.D., Harrison P.L., Heyward A.J., Oliver J.K., Wallace C.C. and Willis B.L. Synchronous spawnings of 105 scleractinian coral species on the Great Barrier Reef // *Mar. Biol.* – 1986. – Vol. 90. – P. 379-394.
31. Pasaribu B., Weng L.C., Lin I.P., Camargo E., Tzen J.T.C., Tsai C.H., Ho S.L., Lin M.R., Wang L.H., Chen C.S. and Jiang P.L. Morphological variability and distinct protein profiles of cultured and endosymbiotic symbiodinium cells isolated from *Exaiptasia pulchella* // *Sci Rep* 2015. – Vol. 5. – 15353.
32. Venn A.A., Loram J.E. and Douglas A.E. Photosynthetic symbioses in animals // *J. Exp. Bot.* – 2008. – Vol. 59. – P. 1069-1080.
33. Davies P.S. Effect of daylight variations on the energy budgets of shallow-water corals // *Mar. Biol.* – 1991. – Vol. 108. – P. 137-144.
34. Muscatine L., Falkowski P.G., Porter J.W. and Dubinsky Z. Fate of photosynthetic fixed carbon in light adapted and shade adapted colonies of the symbiotic coral *Stilophora pistillata* // *Proc. Biol. Sci.* – 1984. – Vol. 222. – P. 181-202.
35. Douglas A.E. Coral bleaching – how and why? // *Mar. Pollut. Bull.* – 2003. – Vol. 46. – P. 385-392.
36. Coles S.L. and Brown B.E. Coral bleaching – capacity for acclimatization and adaptation // *Adv. Mar. Biol.*, Vol 46 – 2003. – Vol. 46. – P. 183-223.
37. Hoegh-Guldberg O., Mumby P.J., Hooten A.J., Steneck R.S., Greenfield P., Gomez E., Harvell C.D., Sale P.F., Edwards A.J., Caldeira K., Knowlton N., Eakin C.M., Iglesias-Prieto R., Muthiga N., Bradbury R.H., Dubi A. and Hatziolos M.E. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification // *Science* – 2007. – Vol. 318. – P. 1737-1742.

38. Rosenberg E., Koren O., Reshef L., Efrony R. and Zilber-Rosenberg I. The role of microorganisms in coral health, disease and evolution // Nat. Rev. Microbiol. – 2007. – Vol. 5. – P. 355-362.
39. Lutz A., Raina J.B., Motti C.A., Miller D.J. and van Oppen M.J.H. Host coenzyme Q redox state is an early biomarker of thermal stress in the coral *Acropora millepora* // PLoS One 2015. – Vol. 10. – e0139290.
40. Franklin D.J., Hoegh-Guldberg P., Jones R.J. and Berges J.A. Cell death and degeneration in the symbiotic dinoflagellates of the coral *Stylophora pistillata* during bleaching // Mar. Ecol.-Prog. Ser. – 2004. – Vol. 272. – P. 117-130.
41. Lesser M.P. Elevated temperatures and ultraviolet radiation cause oxidative stress and inhibit photosynthesis in symbiotic dinoflagellates // Limnol. Oceanogr. – 1996. – Vol. 41. – P. 271-283.
42. Lesser M.P. Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology // Annu. Rev. Physiol. – 2006. – Vol. 68. – P. 253-278.
43. Warner M.E., Fitt W.K. and Schmidt G.W. Damage to photosystem II in symbiotic dinoflagellates: a determinant of coral bleaching // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 1999. – Vol. 96. – P. 8007-8012.
44. Jones R.J., Hoegh-Guldberg O., Larkum A.W.D. and Schreiber U. Temperature-induced bleaching of corals begins with impairment of the CO₂ fixation mechanism in zooxanthellae // Plant Cell Environ. – 1998. – Vol. 21. – P. 1219-1230.
45. Martindale J.L. and Holbrook N.J. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival // J. Cell. Physiol. – 2002. – Vol. 192. – P. 1-15.
46. Fang F.C. Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: concepts and controversies // Nat. Rev. Microbiol. – 2004. – Vol. 2. – P. 820-832.
47. Dykens J.A., Shick J.M., Benoit C., Buettner G.R. and Winston G.W. Oxygen radical production in the sea anemone *Anthopleura elegantissima* and its endosymbiotic algae // J. Exp. Biol. – 1992. – Vol. 168. – P. 219-241.
48. Nii C.M. and Muscatine L. Oxidative stress in the symbiotic sea anemone *Aiptasia pulchella* (Carlgren, 1943): contribution of the animal to superoxide ion production at elevated temperature // Biol. Bull. – 1997. – Vol. 192. – P. 444-456.
49. Lesser M.P. and Farrell J.H. Exposure to solar radiation increases damage to both host tissues and algal symbionts of corals during thermal stress // Coral Reefs – 2004. – Vol. 23. – P. 367-377.
50. Richier S., Furla P., Plantivaux A., Merle P.L. and Allemand D. Symbiosis-induced adaptation to oxidative stress // J. Exp. Biol. – 2005. – Vol. 208. – P. 277-285.
51. Perez S. and Weis V. Nitric oxide and cnidarian bleaching: an eviction notice mediates breakdown of a symbiosis // J. Exp. Biol. – 2006. – Vol. 209. – P. 2804-2810.
52. Pacher P., Beckman J.S. and Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease // Physiol. Rev. – 2007. – Vol. 87. – P. 315-424.
53. Brune B., von Knethen A. and Sandau K.B. Nitric oxide (NO): an effector of apoptosis // Cell Death Differ. – 1999. – Vol. 6. – P. 969-975.
54. Gruenberg J. and van der Goot F.G. Mechanisms of pathogen entry through the endosomal compartments // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2006. – Vol. 7. – P. 495-504.
55. Gates R.D., Baghdasarian G. and Muscatine L. Temperature stress causes host cell detachment in symbiotic Cnidarians: implications for coral bleaching // Biol. Bull. – 1992. – Vol. 182. – P. 324-332.
56. Ainsworth T.D. and Hoegh-Guldberg O. Cellular processes of bleaching in the mediterranean coral *Oculina patagonica* // Coral Reefs – 2008. – Vol. 27. – P. 593-597.
57. Brown B.E., Letissier M.D.A. and Bythell J.C. Mechanisms of bleaching deduced from histological studies of reef corals sampled during a natural bleaching event // Mar. Biol. – 1995. – Vol. 122. – P. 655-663.

58. Dunn S.R., Thomason J.C., Le Tissier M.D.A. and Bythell J.C. Heat stress induces different forms of cell death in sea anemones and their endosymbiotic algae depending on temperature and duration // *Cell Death Differ.* – 2004. – Vol. 11. – P. 1213-1222.
59. Strychar K.B., Sammarco P.W. and Piva T.J. Apoptotic and necrotic stages of *Symbiodinium* (Dinophyceae) cell death activity: bleaching of soft and scleractinian corals // *Phycologia* – 2004. – Vol. 43. – P. 768-777.
60. Sammarco P.W. and Strychar K.B. Responses to high seawater temperatures in zooxanthellate octocorals // *PLoS One* 2013. – Vol. 8. – e54989.
61. Chen M.C., Hong M.C., Huang Y.S., Liu M.C., Cheng Y.M. and Fang L.S. ApRab11, a cnidarian homologue of the recycling regulatory protein Rab11, is involved in the establishment and maintenance of the *Aiptasia*–*Symbiodinium* endosymbiosis // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2005. – Vol. 338. – P. 1607-1616.
62. Raff M. Cell suicide for beginners // *Nature* – 1998. – Vol. 396. – P. 119-122.
63. Richier S., Sabourault C., Courtiade J., Zucchini N., Allemand D. and Furla P. Oxidative stress and apoptotic events during thermal stress in the symbiotic sea anemone, *Anemonia viridis* // *Febs J.* – 2006. – Vol. 273. – P. 4186-4198.
64. Chipuk J.E. and Green D.R. How do BCL-2 proteins induce mitochondrial outer membrane permeabilization? // *Trends Cell Biol.* – 2008. – Vol. 18. – P. 157-164.
65. Lorenzo H.K., Susin S.A., Penninger J. and Kroemer G. Apoptosis inducing factor (AIF): a phylogenetically old, caspase-independent effector of cell death // *Cell Death Differ.* – 1999. – Vol. 6. – P. 516-524.
66. Evan G. and Littlewood T. A matter of life and cell death // *Science* – 1998. – Vol. 281. – P. 1317-1322.
67. Dunn S.R., Schnitzler C.E. and Weis V.M. Apoptosis and autophagy as mechanisms of dinoflagellate symbiont release during cnidarian bleaching: every which way you lose // *Proc. R. Soc. B-Biol. Sci.* – 2007. – Vol. 274. – P. 3079-3085.
68. Cuervo A.M. Autophagy: in sickness and in health // *Trends Cell Biol.* – 2004. – Vol. 14. – P. 70-77.
69. Boya P., Gonzalez-Polo R.A., Casares N., Perfettini J.L., Dessen P., Larochette N., Metivier D., Meley D., Souquere S., Yoshimori T., Pierron G., Codogno P. and Kroemer G. Inhibition of macroautophagy triggers apoptosis // *Mol. Cell. Biol.* – 2005. – Vol. 25. – P. 1025-1040.
70. Meyers P.A. Fatty acids and hydrocarbons of Caribbean corals // *Proceedings of third international coral reef symposium. Miami, USA, 1977.* – Vol. 1. – P. 529-536.
71. Imbs A.B. Fatty acids and other lipids of corals: composition, distribution, and biosynthesis // *Russ. J. Mar. Biol.* – Vol. 39. – P. 153-168.
72. Imbs A.B. High level of tetracosapolyenoic fatty acids in the cold-water mollusk *Tochuina tetraquetra* is a result of the nudibranch feeding on soft corals // *Polar Biology* – 2016. – Vol. 39. – P. 1511-1514.
73. Vitova M., Goecke F., Sigler K. and Rezanka T. Lipidomic analysis of the extremophilic red alga *Galdieria sulphuraria* in response to changes in pH // *Algal Res.* 2016. – Vol. 13. – P. 218-226.
74. Rybin V.G., Imbs A.B., Demidkova D.A. and Ermolenko E.V. Identification of molecular species of monoalkyldiacylglycerol from the squid *Berryteuthis magister* using liquid chromatography-APCI high-resolution mass spectrometry // *Chem. Phys. Lipids* 2017. – Vol. 202. – P. 55-61.
75. Garrett T.A., Schmeitzel J.L., Klein J.A., Hwang J.J. and Schwarz J.A. Comparative lipid profiling of the cnidarian *Aiptasia pallida* and its dinoflagellate symbiont // *PLoS One* – 2013. – Vol. 8. – P. e57975.
76. Imbs A.B., Dang L.P.T., Rybin V.G. and Svetashev V.I. Fatty acid, lipid class, and phospholipid molecular species composition of the soft coral *Xenia* sp. (Nha Trang Bay, the South China Sea, Vietnam) // *Lipids* – 2015. – Vol. 50. – P. 575-589.

77. Imbs A.B., Dang L.P.T., Rybin V.G., Nguyen N.T. and Pham L.Q. Distribution of very-long-chain fatty acids between molecular species of different phospholipid classes of two soft corals // *Biochem. Analit. Biochem.* – 2015. – Vol. 4. – P. 205.
78. Imbs A.B. and Dang L.T.P. The molecular species of phospholipids of the cold-water soft coral *Gersemia rubiformis* (Ehrenberg, 1834) (Alcyonacea, Nephtheidae) // *Russ. J. Mar. Biol.* 2017. – Vol. 43. – P. 239-244.
79. Tang C.H., Ku P.C., Lin C.Y., Chen T.H., Lee K.H., Lee S.H. and Wang W.H. Intra-colonial functional differentiation-related modulation of the cellular membrane in a Pocilloporid coral *Seriatopora caliendrum* // *Mar. Biotechnol.* 2015. – Vol. 17. – P. 633-643.
80. Patton J.S., Battey J.F., Rigler M.W., Porter J.W., Black C.C. and Burris J.E. A comparison of the metabolism of bicarbonate ^{14}C and acetate ^{1-14}C and the variability of species lipid compositions in reef corals // *Mar. Biol.* – 1983. – Vol. 75. – P. 121-130.
81. Harland A.D., Navarro J.C., Davies P.S. and Fixter L.M. Lipids of some caribbean and red sea corals: total lipid, was esters, triglycerides and fatty acids // *Mar. Biol.* – 1993. – Vol. 117. – P. 113-117.
82. Oku H., Yamashiro H., Onaga K., Sakai K. and Iwasaki H. Seasonal changes in the content and composition of lipids in the coral *Goniastrea aspera* // *Coral Reefs* – 2003. – Vol. 22. – P. 83-85.
83. Joseph J.D. Lipid composition of marine and estuarine invertebrates: Porifera and Cnidaria // *Prog. Lipid Res.* – 1979. – Vol. 18. – P. 1-30.
84. Latyshev N.A., Naumenko N.V., Svetashev V.I. and Latypov Y.Y. Fatty acids of reef building corals // *Mar. Ecol.-Prog. Ser.* – 1991. – Vol. 76. – P. 295-301.
85. Al Lihaibi S.S., Al Sofyani A.A. and Niaz G.R. Chemical composition of corals in Saudi red sea coast // *Oceanologica Acta* – 1998. – Vol. 21. – P. 495-501.
86. Imbs A.B., Demidkova D.A., Latypov Y.Y. and Pham L.Q. Application of fatty acids for chemotaxonomy of reef-building corals // *Lipids* – 2007. – Vol. 42. – P. 1035-1046.
87. Tang C.H., Lin C.Y., Lee S.H. and Wang W.H. Membrane lipid profiles of coral responded to zinc oxide nanoparticle-induced perturbations on the cellular membrane // *Aquat. Toxicol.* 2017. – Vol. 187. – P. 72-81.
88. Tang C.H., Lin C.Y., Sun P.P., Lee S.H. and Wang W.H. Modeling the effects of Irgarol 1051 on coral using lipidomic methodology for environmental monitoring and assessment // *Sci. Total Environ.* 2018. – Vol. 627. – P. 571-578.
89. Tang C.H., Shi S.H., Lin C.Y., Li H.H. and Wang W.H. Using lipidomic methodology to characterize coral response to herbicide contamination and develop an early biomonitoring model // *Sci. Total Environ.* 2019. – Vol. 648. – P. 1275-1283.
90. Chen H.K., Wang L.H., Chen W.N.U., Mayfield A.B., Levy O., Lin C.S. and Chen C.S. Coral lipid bodies as the relay center interconnecting diel-dependent lipidomic changes in different cellular compartments // *Sci Rep* 2017. – Vol. 7. – P. 13.
91. Carballeira N.M., Miranda C. and Rodriguez A.D. Phospholipid fatty acid composition of *Gorgonia mariae* and *Gorgonia ventalina* // *Comp. Biochem. Phys. B* – 2002. – Vol. 131. – P. 83-87.
92. Slaterry M. and McClintock J.B. Population structure and feeding deterrence in three shallow-water Antarctic soft corals // *Mar. Biol.* – 1995. – Vol. 122. – P. 461-470.
93. Imbs A.B., Demina O.A. and Demidkova D.A. Lipid class and fatty acid composition of the boreal soft coral *Gersemia rubiformis* // *Lipids* – 2006. – Vol. 41. – P. 721-725.
94. Vysotskii M.V. and Svetashev V.I. Identification, isolation and characterization of tetracosapolyenoic acids in lipids of marine coelenterates // *Biochim. Biophys. Acta* – 1991. – Vol. 1083. – P. 161-165.
95. Imbs A.B., Demidkova D.A., Dautova T.N. and Latyshev N.A. Fatty acid biomarkers of symbionts and unusual inhibition of tetracosapolyenoic acid biosynthesis in corals (Octocorallia) // *Lipids* – 2009. – Vol. 44. – P. 325-335.

96. Imbs A.B., Luu H.V. and Long P.Q. Lipids of soft coral *Sinularia* species // Chem. Nat. Comp. – 2007. – Vol. 43. – P. 610-611.
97. Imbs A.B. and Latyshev N.A. Fatty acid composition as an indicator of possible sources of nutrition for soft corals of the genus *Sinularia* (Alcyoniidae) // J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 2012. – Vol. 92. – P. 1341-1347.
98. Imbs A.B., Latyshev N.A., Zhukova N.V. and Dautova T.N. Comparison of fatty acid compositions of azooxanthellate *Dendronephthya* and zooxanthellate soft coral species // Comp. Biochem. Physiol. – 2007. – Vol. 148B. – P. 314-321.
99. Svetashev V.I. and Imbs A.B. Isomerization of octadecapentaenoic acid (18:5n-3) in algal lipid samples under derivatization for GC and GC-MS analysis // J. Phycol. – 2014. – Vol. 50. – P. 322-327.
100. Imbs A.B., Demidkova D.A. and Dautova T.N. Lipids and fatty acids of cold-water soft corals and hydrocorals: a comparison with tropical species and implications for coral nutrition // Mar. Biol. – 2016. – Vol. 163. – P. 202.
101. Imbs A.B., Rybin V.G., Kharlamenko V.I., Dang L.P.T., Nguyen N.T., Pham K.M. and Pham L.Q. Polyunsaturated molecular species of galactolipids: markers of zooxanthellae in a symbiotic association of the soft coral *Capnella* sp. (Anthozoa: Alcyonacea) // Russ. J. Mar. Biol. – 2015. – Vol. 41. – P. 461-467.
102. Daly M., Brugler M.R., Cartwright P., Collins A.G., Dawson M.N., Fautin D.G., France S.C., McFadden C.S., Opresko D.M., Rodriguez E., Romano S.L. and Stake J.L. The phylum Cnidaria: a review of phylogenetic patterns and diversity 300 years after Linnaeus // Zootaxa – 2007. – Vol. – P. 127-182.
103. Miralles J., Diop M., Ferrer A. and Kornprobst J.M. Fatty acid composition of 5 Zoantharia from the Senegalese coast - *Palythoa dartevellei* Pax, *Palythoa monodi* Pax, *Palythoa variabilis* Duerden, *Palythoa senegalensis* Pax and their associated zooxanthellae, and *Palythoa senegambiensis* Carter and its commensal, the decapoda *Diogenes ovatis* Miers // Comp. Biochem. Phys. B – 1989. – Vol. 94. – P. 91-97.
104. Carballeira N.M. and Reyes M. Identification of a new 6-bromo-5,9-eicosadienoic acid from the anemone *Condylactis gigantea* and the zoanthid *Palythoa caribaeorum* // J. Nat. Prod. – 1995. – Vol. 58. – P. 1689-1694.
105. Imbs A.B. Lipid class and fatty acid compositions of the zoanthid *Palythoa caesia* (Anthozoa: Hexacorallia: Zoanthidea) and its chemotaxonomic relations with corals // Biochem. Syst. Ecol. – 2014. – Vol. 54. – P. 213-218.
106. Coffroth M.A. and Santos S.R. Genetic diversity of symbiotic dinoflagellates in the genus *Symbiodinium* // Protist – 2005. – Vol. 156. – P. 19-34.
107. LaJeunesse T.C., Parkinson J.E., Gabrielson P.W., Jeong H.J., Reimer J.D., Voolstra C.R. and Santos S.R. Systematic revision of symbiodiniaceae highlights the antiquity and diversity of coral endosymbionts // Curr. Biol. 2018. – Vol. 28. – P. 2570.
108. Patton J.S., Abraham S. and Benson A.A. Lipogenesis in the intact coral *Pocillopora capicata* and its isolated zooxanthellae: evidence for a light-driven carbon cycle between symbiont and host // Mar. Biol. – 1977. – Vol. 44. – P. 235-247.
109. Hashimoto N., Fujiwara S., Watanabe K., Iguchi K. and Tsuzuki M. Localization of clavulones, prostanoids with antitumor activity, within the Okinawan soft coral *Clavularia viridis* (Alcyonacea, Clavulariidae): Preparation of a high-purity *Symbiodinium* fraction using a protease and a detergent // Lipids – 2003. – Vol. 38. – P. 991-997.
110. Bishop D.G. and Kenrick J.R. Fatty acid composition of symbiotic zooxanthellae in relation to their hosts // Lipids – 1980. – Vol. 15. – P. 799-804.
111. Chen H.-K., Song S.-N., Wang L.-H., Mayfield A.B., Chen Y.-J., Chen W.-N.U. and Chen C.-S. Compartmental comparison of major lipid species in a coral-*Symbiodinium* endosymbiosis: evidence that the coral host regulates lipogenesis of its cytosolic lipid bodies // PLoS One – 2015. – Vol. 10. – P. e0132519.

112. Flaim G., Obertegger U. and Guella G. Changes in galactolipid composition of the cold freshwater dinoflagellate *Borghiella dodgei* in response to temperature // *Hydrobiologia* – 2012. – Vol. 698. – P. 285-293.
113. Li-Beisson Y., Thelen J.J., Fedosejevs E. and Harwood J.L. The lipid biochemistry of eukaryotic algae // *Prog. Lipid Res.* – 2018. – Vol. 74. – P. 31-68.
114. Leblond J.D., Dodson J. and Dahmen J.L. Mono- and digalactosyldiacylglycerol composition of dinoflagellates. VII. Evidence against galactolipid production and plastid presence in the heterotrophic, basal dinoflagellate, *Oxyrrhis marina* // *Europ. J. Phycol.* – 2013. – Vol. 48. – P. 309-317.
115. Dahmen J.L., Khadka M., Dodson V.J. and Leblond J.D. Mono- and digalactosyldiacylglycerol composition of dinoflagellates. VI. Biochemical and genomic comparison of galactolipid biosynthesis between *Chromera velia* (Chromerida), a photosynthetic alveolate with red algal plastid ancestry, and the dinoflagellate, *Lingulodinium polyedrum* // *Europ. J. Phycol.* – 2013. – Vol. 48. – P. 268-277.
116. Guella G., Frassanito R. and Mancini I. A new solution for an old problem: the regiochemical distribution of the acyl chains in galactolipids can be established by electrospray ionization tandem mass spectrometry // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* – 2003. – Vol. 17. – P. 1982-1994.
117. Gray C.G., Lasiter A.D., Li C. and Leblond J.D. Mono- and digalactosyldiacylglycerol composition of dinoflagellates. I. Peridinin-containing taxa // *Europ. J. of Phycol.* – 2009. – Vol. 44. – P. 191-197.
118. Kadri N., Khetta B., Yahiaoui-Zaidi R., Barragan-Montero V. and Montero J.L. Analysis of polar lipid fraction of *Pinus halepensis* Mill. seeds from North Algeria // *Ind. Crop. Prod.* – 2013. – Vol. 51. – P. 116-122.
119. Kobayashi K. Role of membrane glycerolipids in photosynthesis, thylakoid biogenesis and chloroplast development // *J. Plant Res.* – 2016. – Vol. 129. – P. 565-580.
120. Rosset S., Koster G., Brandsma J., Hunt A.N., Postle A.D. and D'Angelo C. Lipidome analysis of Symbiodiniaceae reveals possible mechanisms of heat stress tolerance in reef coral symbionts // *Coral Reefs* – 2019. – Vol. 38. – P. 1241-1253.
121. Titlyanov E.A., Titlyanova T.V., Amat A. and Yamazato K. Symbiotic dinoflagellates of hermatypic corals from a fringing reef at Sesoko Island, Ryukyu Archipelago, Japan: II. Morphophysiological variations // *Galaxea, JCRS* – 2001. – Vol. 3. – P. 51-63.
122. Zhukova N.V. and Titlyanov E.A. Fatty acid variations in symbiotic dinoflagellates from Okinawan corals // *Phytochemistry* – 2003. – Vol. 62. – P. 191-195.
123. Imbs A.B., Yakovleva I.M. and Pham L.Q. Distribution of lipids and fatty acids in the zooxanthellae and host of the soft coral *Sinularia* sp. // *Fisheries Science* – 2010. – Vol. 76. – P. 375-380.
124. Harland A.D., Fixter L.M., Davies P.S. and Anderson R.A. Distribution of lipids between the zooxanthellae and animal compartment in the symbiotic sea anemone *Anemonia viridis*: wax esters, triglycerides and fatty acids // *Mar. Biol.* – 1991. – Vol. 110. – P. 13-19.
125. Canavate J.P., Armada I., Rios J.L. and Hachero-Cruzado I. Exploring occurrence and molecular diversity of betaine lipids across taxonomy of marine microalgae // *Phytochemistry* 2016. – Vol. 124. – P. 68-78.
126. Flaim G., Obertegger U., Anesi A. and Guella G. Temperature-induced changes in lipid biomarkers and mycosporine-like amino acids in the psychrophilic dinoflagellate *Peridinium aciculiferum* // *Freshwater Biology* – 2014. – Vol. 59. – P. 985-997.
127. Leblond J.D., Khadka M., Duong L. and Dahmen J.L. Squishy lipids: temperature effects on the betaine and galactolipid profiles of a C-18/C-18 peridinin-containing dinoflagellate, *Symbiodinium microadriaticum* (Dinophyceae), isolated from the mangrove jellyfish, *Cassiopea xamachana* // *Phycol. Res.* – 2015. – Vol. 63. – P. 219-230.
128. Glynn P.W., Gilchrist S.L. and Perez M. Lipid decline in stressed corals and their crustacean symbionts // *Biol. Bull.* – 1985. – Vol. 168. – P. 276-284.

129. Harriott V.J. Coral lipids and environmental stress // Environ. Monit. Assess. – 1993. – Vol. 25. – P. 131-139.
130. Yamashiro H., Oku H. and Onaga K. Effect of bleaching on lipid content and composition of Okinawan corals // Fisheries Science – 2005. – Vol. 71. – P. 448-453.
131. Tolosa I., Treignier C., Grover R. and Ferrier-Pages C. Impact of feeding and short-term temperature stress on the content and isotopic signature of fatty acids, sterols, and alcohols in the scleractinian coral *Turbinaria reniformis* // Coral Reefs – 2011. – Vol. – P. 763-774.
132. Bachok Z., Mfilinge P. and Tsuchiya M. Characterization of fatty acid composition in healthy and bleached corals from Okinawa, Japan // Coral Reefs – 2006. – Vol. 25. – P. 545-554.
133. Schoepf V., Grottoli A.G., Levas S.J., Aschaffenburg M.D., Baumann J.H., Matsui Y. and Warner M.E. Annual coral bleaching and the long-term recovery capacity of coral // Proc. R. Soc. B-Biol. Sci. – 2015. – Vol. 282. – 20151887.
134. Papina M., Meziane T. and van Woesik R. Acclimation effect on fatty acids of the coral *Montipora digitata* and its symbiotic algae // Comp. Biochem. Phys. B – 2007. – Vol. 147. – P. 583-589.
135. Diaz-Almeyda E., Thome P.E., El Hafidi M. and Iglesias-Prieto R. Differential stability of photosynthetic membranes and fatty acid composition at elevated temperature in *Symbiodinium* // Coral Reefs – 2011. – Vol. 30. – P. 217-225.
136. Kneeland J., Huguen K., Cervino J., Hauff B. and Eglinton T. Lipid biomarkers in *Symbiodinium* dinoflagellates: new indicators of thermal stress // Coral Reefs – 2013. – Vol. 32. – P. 923-934.
137. Dormann P. and Benning C. Galactolipids rule in seed plants // Trends Plant Sci. – 2002. – Vol. 7. – P. 112-118.
138. Folch J., Lees M. and Sloane-Stanley G.A. A simple methods for the isolation and pyrification of total lipid extraction from animal tissue // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226(1). – P. 497-509.
139. Imbs A.B., Dang L.P.T. and Nguyen K.B. Comparative lipidomic analysis of phospholipids of hydrocorals and corals from tropical and cold-water regions // PLoS One – 2019. – Vol. 14. – P. 22.
140. Viladrich N., Bramanti L., Tsounis G., Chocarro B., Martinez-Quitana A., Ambroso S., Madurell T. and Rossi S. Variation in lipid and free fatty acid content during spawning in two temperate octocorals with different reproductive strategies: surface versus internal brooder // Coral Reefs – 2016. – Vol. 35. – P. 1033-1045.
141. Латышев Н.А., Светашев В.И., Хунг Н.К. and Нра Д.Т. Состав и сезонные изменения фосфолипидов альционарий // Биол. моря – 1986. – Vol. – P. 52-56.
142. Urbanova K., Vrkoslav V., Valterova I., Hakova M. and Cvacka J. Structural characterization of wax esters by electron ionization mass spectrometry // J. Lipid Res. – 2011. – Vol. 53. – P. 204-213.
143. Byrdwell W.C. The bottom-up solution to the triacylglycerol lipidome using atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry // Lipids – 2005. – Vol. 40. – P. 383-417.
144. Zhujin L., Jianxiong L. and Houming W. A study on chemical constituents of South China Sea soft coral *Sinularia microclavate* // Chinese J. Org. Chem. – 1990. – Vol. 10. – P. 277-281.
145. Al Lihaibi S.S., Al Sofyani A., Niaz G.R., Ahmad V.U., Noorwala M. and Mohammad F.V. Long-chain wax esters and diphenylamine in fire coral *Millepora dichotoma* and *Millepora platyphylla* from Saudi Red Sea Coast // Sci. Mar. – 2002. – Vol. 66. – P. 95-101.
146. Benson A.A. and Muscatine L. Wax in coral mucus: energy transfer from corals to reef fishes // Limnol. Oceanogr. – 1974. – Vol. 19. – P. 810-814.
147. Chierszko L.S. and Karns T.K.B. Comparative biochemistry of coral reef coelenterates // Biology and geology of coral reefs / E. R. Jones O.A. – New York: Academic Press, 1973. – Vol. II. – P. 183-203.
148. Athenstaedt K. and Daum G. Phosphatidic acid, a key intermediate in lipid metabolism // Europ. J. Biochem. – 1999. – Vol. 266. – P. 1-16.

149. Magnusson C.D. and Haraldsson G.G. Ether lipids // Chem. Phys. Lipids – 2011. – Vol. 164. – P. 315-340.
150. Imbs A.B., Yakovleva I.M., Dautova T.N., Bui L.H. and Jones P. Diversity of fatty acid composition of symbiotic dinoflagellates in corals: evidence for the transfer of host PUFAs to the symbionts // Phytochemistry – 2014. – Vol. 101. – P. 76-82.
151. Имбс А.Б., Яковлева И.М., Латышев Н.А. and Фам Л.К. Биосинтез полиненасыщенных жирных кислот в зооксантеллах и полипах кораллов // Биол. моря – 2010. – Vol. 36. – P. 445-450.
152. Dalsgaard J., John M.S., Kattner G., Muller-Navarra D. and Hagen W. Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment // Adv. Mar. Biol. – 2003. – Vol. 46. – P. 225-340.
153. Cooper T.F., Lai M., Ulstrup K.E., Saunders S.M., Flematti G.R., Radford B. and van Oppen M.J.H. Symbiodinium genotypic and environmental controls on lipids in reef building corals // PLoS One – 2011. – Vol. 6. – e20434.
154. Danielewicz M.A., Anderson L.A. and Franz A.K. Triacylglycerol profiling of marine microalgae by mass spectrometry // J. Lipid Res. – 2011. – Vol. 52. – P. 2101-2108.
155. Rezanka T., Lukavsky J., Nedbalova L. and Sigler K. Lipidomic profile in three species of dinoflagellates (*Amphidinium carterae*, *Cystodinium* sp., and *Peridinium aciculiferum*) containing very long chain polyunsaturated fatty acids // Phytochemistry – 2017. – Vol. 139. – P. 88-97.
156. Gregoire V., Schmacka F., Coffroth M.A. and Karsten U. Photophysiological and thermal tolerance of various genotypes of the coral endosymbiont *Symbiodinium* sp (Dinophyceae) // J. Appl. Phycol. – 2017. – Vol. 29. – P. 1893-1905.
157. Silverstein R.N., Cunnig R. and Baker A.C. *Tenacious D: Symbiodinium* in clade D remain in reef corals at both high and low temperature extremes despite impairment // J. Exp. Biol. – 2017. – Vol. 220. – P. 1192-1196.
158. Baker A.C., Starger C.J., McClanahan T.R. and Glynn P.W. Corals' adaptive response to climate change // Nature – 2004. – Vol. 430. – P. 741-741.
159. Liang M.H., Wang L., Wang Q.M., Zhu J.H. and Jiang J.G. High-value bioproducts from microalgae: strategies and progress // Crit. Rev. Food Sci. – 2019. – Vol. 59. – P. 2423-2441.
160. Fan J.L., Yan C.S. and Xu C.C. Phospholipid: diacylglycerol acyltransferase-mediated triacylglycerol biosynthesis is crucial for protection against fatty acid-induced cell death in growing tissues of *Arabidopsis* // Plant Journal – 2013. – Vol. 76. – P. 930-942.
161. Dahlqvist A., Stahl U., Lenman M., Banas A., Lee M., Sandager L., Ronne H. and Stymne H. Phospholipid : diacylglycerol acyltransferase: an enzyme that catalyzes the acyl-CoA-independent formation of triacylglycerol in yeast and plants // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 2000. – Vol. 97. – P. 6487-6492.
162. Zienkiewicz K., Du Z.Y., Ma W., Vollheyde K. and Benning C. Stress-induced neutral lipid biosynthesis in microalgae – molecular, cellular and physiological insights // Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids – 2016. – Vol. 1861. – P. 1269-1281.
163. Legeret B., Schulz-Raffelt M., Nguyen H.M., Auroy P., Beisson F., Peltier G., Blanc G. and Li-Beisson Y. Lipidomic and transcriptomic analyses of *Chlamydomonas reinhardtii* under heat stress unveil a direct route for the conversion of membrane lipids into storage lipids // Plant Cell Environ. – 2016. – Vol. 39. – P. 834-847.
164. Lundquist P.K., Poliakov A., Bhuiyan N.H., Zybaïlov B., Sun Q. and van Wijk K.J. The functional network of the *Arabidopsis* *Plastoglobule* proteome based on quantitative proteomics and genome-wide coexpression analysis // Plant Physiology – 2012 – Vol. 158. – P. 1172-1192.
165. Joyard J., Ferro M., Masselon C., Seigneurin-Berny D., Salvi D., Garin J. and Rolland N. Chloroplast proteomics highlights the subcellular compartmentation of lipid metabolism // Prog. Lipid Res. – 2010 – Vol. 49. – P. 128-158.

166. Fan J.L., Andre C. and Xu C.C. A chloroplast pathway for the de novo biosynthesis of triacylglycerol in *Chlamydomonas reinhardtii* // FEBS Lett. – 2011. – Vol. 585. – P. 1985-1991.
167. Goodson C., Roth R., Wang Z.T. and Goodenough U. Structural correlates of cytoplasmic and chloroplast lipid body synthesis in *Chlamydomonas reinhardtii* and stimulation of lipid body production with acetate boost // Eukaryot. Cell – 2011. – Vol. 10. – P. 1592-1606.
168. Davidi L., Shimoni E., Khozin-Goldberg I., Zamir A. and Pick U. Origin of beta-carotene-rich plastoglobuli in *Dunaliella bardawil*1[C][W][OPEN] // Plant Physiology – 2014. – Vol. 164. – P. 2139-2156.
169. Warakanont J., Tsai C.H., Michel E.J.S., Murphy G.R., Hsueh P.Y., Roston R.L., Sears B.B. and Benning C. Chloroplast lipid transfer processes in *Chlamydomonas reinhardtii* involving a trigalactosyldiacylglycerol 2 (TGD2) orthologue // Plant Journal – 2015. – Vol. 84. – P. 1005-1020.
170. Yu E.T., Zendejas F.J., Lane P.D., Gaucher S., Simmons B.A. and Lane T.W. Triacylglycerol accumulation and profiling in the model diatoms *Thalassiosira pseudonana* and *Phaeodactylum tricornutum* (Baccilariophyceae) during starvation // J. Appl. Phycol. – 2009. – Vol. 21. – P. 669-681.
171. MacDougall K.M., McNichol J., McGinn P.J., O'Leary S.J.B. and Melanson J.E. Triacylglycerol profiling of microalgae strains for biofuel feedstock by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry // Analytical and Bioanalytical Chemistry – 2011. – Vol. 401. – P. 2609-2616.
172. Chen H.K., Song S.N., Wang L.H., Mayfield A.B., Chen Y.J., Chen W.N.U. and Chen C.S. A Compartmental comparison of major lipid species in a coral-symbiodinium endosymbiosis: evidence that the coral host regulates lipogenesis of its cytosolic lipid bodies // PLoS One – 2015. – Vol. 10. – e0132519.
173. Luo Y.J., Wang L.H., Chen W.N.U., Peng S.E., Tzen J.T.C., Hsiao Y.Y., Huang H.J., Fang L.S. and Chen C.S. Ratiometric imaging of gastrodermal lipid bodies in coral-dinoflagellate endosymbiosis // Coral Reefs – 2009. – Vol. 28. – P. 289-301.
174. Grant A.J., Remond M. and Hinde R. Low molecular-weight factor from *Plesiastrea versipora* (Scleractinia) that modifies release and glycerol metabolism of isolated symbiotic algae // Mar. Biol. – 1998. – Vol. 130. – P. 553-557.
175. Meyers P.A. Polyunsaturated fatty acids in coral: indicators of nutritional sources // Marine Biology Letters – 1979. – Vol. 1. – P. 69-75.
176. Hillmanning D.N. and Blanquet R.S Lipid biosynthesis in warm- and cold-acclimatized sea anemones, *Metridium senile* (L.) // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. – 1980. – Vol. 48. – P. 113-121.
177. Beleneva I.A., Dautova T.I. and Zhukova N.V. Characterization of communities of heterotrophic bacteria associated with healthy and diseased corals in Nha Trang Bay (Vietnam) // Microbiology – 2005. – Vol. 74. – P. 579-587.
178. Rohwer F., Breitbart M., Jara J., Azam F. and Knowlton N. Diversity of bacteria associated with the Caribbean coral *Montastraea franksi* // Coral Reefs – 2001. – Vol. 20. – P. 85-91.
179. Baptista M., Lopes V.M., Pimentel M.S., Bandarra N., Narciso L., Marques A. and Rosa R. Temporal fatty acid dynamics of the octocoral *Veretillum cynomorium* // Comp. Biochem. Phys. B – 2012. – Vol. 161. – P. 178-187.
180. Vance D.E. Physiological roles of phosphatidylethanolamine N-methyltransferase // Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids – 2013. – Vol. 1831. – P. 626-632.
181. Mukhamedova K.S. and Glushenkova A.I. Natural phosphonolipids // Chem. Nat. Compd. – 2000. – Vol. 36. – P. 329-341.
182. Chintalapati M., Truax R., Stout R., Portier R. and Losso J.N. *In vitro* and *in vivo* anti-angiogenic activities and inhibition of hormone-dependent and -independent breast cancer cells by ceramide methylaminoethylphosphonate // J. Agr. Food Chem. – 2009. – Vol. 57. – P. 5201-5210.

183. Grottoli A.G., Rodrigues L.J. and Juarez C. Lipids and stable carbon isotopes in two species of Hawaiian corals, *Porites compressa* and *Montipora verrucosa*, following a bleaching event // Mar. Biol. – 2004. – Vol. 145. – P. 621-631.
184. Carilli J., Donner S.D. and Hartmann A.C. Historical temperature variability affects coral response to heat stress // PLoS One – 2012. – Vol. 7. – e34418.
185. Baird A.H., Bhagooli R., Ralph P.J. and Takahashi S. Coral bleaching: the role of the host // Trends Ecol. Evol. – 2008. – Vol. 24. – P. 16-20.
186. Fitt W.K., Gates R.D., Hoegh-Guldberg O., Bythell J.C., Jatkar A., Grottoli A.G., Gomez M., Fisher P., Lajuenesse T.C., Pantos O., Iglesias-Prieto R., Franklin D.J., Rodrigues L.J., Torregiani J.M., van Woesik R. and Lesser M.P. Response of two species of Indo-Pacific corals, *Porites cylindrica* and *Stylophora pistillata*, to short-term thermal stress: The host does matter in determining the tolerance of corals to bleaching // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. – 2009. – Vol. 373. – P. 102-110.
187. VanOppen, M. J. H. and Lough J. M. Coral bleaching: patterns, processes, causes and consequences / M. J. H. VanOppen and J. M. Lough. – Cham: Springer, 2018. – Vol. 233. – P. 1-356.
188. Vance J.E. Phospholipid synthesis and transport in mammalian cells // Traffic – 2015. – Vol. 16. – P. 1-18.
189. Dean J.M. and Lodhi I.J. Structural and functional roles of ether lipids // Protein Cell – 2018. – Vol. 9. – P. 196-206.
190. Kostetsky E.Y. The Phospholipid composition of *Spongia*, *Coelenterata*, *Plathelminthes*, *Nemertini*, *Annelida*, *Sipunculida* and *Echiurida* // Russ. J. Mar. Biol. – 1984. – Vol. – P. 46-53.
191. Bochkov V., Gesslbauer B., Mauerhofer C., Philippova M., Erne P. and Oskolkova O.V. Pleiotropic effects of oxidized phospholipids // Free Radic. Biol. Med. – 2017. – Vol. 111. – P. 6-24.
192. Becker K.W., Collins J.R., Durham B.P., Groussman R.D., White A.E., Fredricks H.F., Ossolinski J.E., Repeta D.J., Carini P., Armbrust E.V. and Van Mooy B.A.S. Daily changes in phytoplankton lipidomes reveal mechanisms of energy storage in the open ocean // Nature Communications – 2018. – Vol. 9. – 5179.
193. LaBrant E., Barnes A.C. and Roston R.L. Lipid transport required to make lipids of photosynthetic membranes // Photosynthesis Research – 2018. – Vol. 138. – P. 345-360.
194. Kalisch B., Doermann P. and Hoelzl G. DGDG and glycolipids in plants and algae // Lipids in plant and algae development / Y. Nakamura and Y. LiBeisson. – New York: Springer, 2016. – Vol. 86. – P. 51-83.
195. Goss R. and Wilhelm C. Lipids in algae, lichens and mosses // Lipids in photosynthesis: essential and regulatory functions / H. Wada and N. Murata. – Dordrecht: Springer, 2009. – Vol. 30. – P. 117-137.
196. Sandalio L.M. and Romero-Puertas M.C. Peroxisomes sense and respond to environmental cues by regulating ROS and RNS signalling networks // Annals of Botany – 2014. – Vol. 116. – P. 475-485.
197. Ventura P., Toullec G., Fricano C., Chapron L., Meunier V., Rottinger E., Furla P. and Barnay-Verdier S. Cnidarian primary cell culture as a tool to investigate the effect of thermal stress at cellular level // Mar. Biotechnol. – 2018. – Vol. 20. – P. 144-154.
198. Mansfield K.M. and Gilmore T.D. Innate immunity and cnidarian-Symbiodiniaceae mutualism // Dev. Comp. Immunol. – 2019. – Vol. 90. – P. 199-209.
199. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death // Toxicol. Pathol. – 2007. – Vol. 35. – P. 495-516.
200. Hochachka P.W. and Somero G.N. Biochemical adaptation. – New Jersey, USA: Princeton University Press, 2014. – P. 560.
201. Mansfield K.M. and Gilmore T.D. Innate immunity and cnidarian-Symbiodiniaceae mutualism // Dev. Comp. Immunol. – 2019. – Vol. 90. – P. 199-209.

202. Serbulea V., DeWeese D. and Leitinger N. The effect of oxidized phospholipids on phenotypic polarization and function of macrophages // *Free Radic. Biol. Med.* – 2017. – Vol. 111. – P. 156-168.
203. O'Donnell V.B., Aldrovandi M., Murphy R.C. and Kronke G. Enzymatically oxidized phospholipids assume center stage as essential regulators of innate immunity and cell death // *Sci. Signal.* – 2019. – Vol. 12. – P. 12.
204. Farmer E.E. and Mueller M.J. ROS-mediated lipid peroxidation and RES-activated signaling // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2013. – Vol. 64, – P. 429-450.
205. Dietrich H.F. and Fontaine A.R. Decalcification method for ultrastructure of echinoderm tissues // *Stain Technology* – 1975. – Vol. 50. – P. 351-354.
206. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes // *Methods in Enzymology* – 1987. – Vol. 148. – P. 350-382.
207. Svetashev V.I. Mild Method for preparation of 4,4-dimethyloxazoline derivatives of polyunsaturated fatty acids for GC-MS // *Lipids* – 2011. – Vol. 46. – P. 463-467.
208. Vaskovsky V.E., Kostetsky E.Y. and Vasendin I.M. A universal reagent for phospholipid analysis // *Journal of Chromatography* – 1975. – Vol. 114. – P. 129-141.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Таблица 1 – Состав и содержание полярных и неполярных классов липидов (липидомы) мягких кораллов *S. siaesensis* и *S. heterospiculata*, рифообразующего коралла *A. cerealis*, зоантарии *P. tuberculosa* и фракций зооксантелл выделенных из *S. heterospiculata* (ZS: *Cladocopium* C1 и *Cladocopium* C3) и *P. tuberculosa* (ZP: *Durusdinium trenchii*, *Cladocopium* C1 и *Cladocopium* C3)

	<i>S. siaesensis</i>	<i>A. cerealis</i>	<i>S. heterospicu lata</i>	ZS	<i>P. tuberculosa</i>	ZP
Класс липида	Содержание, % в липидном экстракте					
Воски	18.25	11.30 ± 3.56	11.68 ± 1.07	3.26±0.42	8.24±1.32	2.74±0.41
ТГ+МАДАГ	13.62	8.04 ± 2.90	7.52 ± 0.68	4.29±0.31	6.34±1.63	2.85±0.22
Стерины	н.у. ¹	4.41 ± 1.99	ну	0.44±0.09	3.96±1.43	1.20±0.10
Углеводороды	н.у.	н.у.	ну	1.42±0.30	1.69±0.19	1.61±0.34
Фосфолипиды	8.55	29.17±7.55	12.36 ± 2.14	10.81±0.58	39.54±2.02	11.34±1.50
ФХ	2.53	10.85±3.77	4.06 ± 0.47	10.81±0.58	15.10±0.55	6.92±1.13
ФЭ	2.14	7.25±1.78	3.67 ± 0.67	–	10.93±0.58	2.73±0.10
ФС	1.5	2.89±0.72	2.15 ± 0.48	–	5.98±0.11	–
ФИ	0.32	0.93±0.35	0.43 ± 0.09	–	1.6±0.13	–
ЦАЭФ	0.71	7.19±3.39	1.09 ± 0.28	–	4.49±0.7	–
ЛФХ	1.35	0.55±0.25	0.96 ± 0.26	–	1.44±0.31	1.69±0.32
Гликолипиды	1.29			13.60±0.12	4.04±0.37	16.02±1.58
ДГДГ+СХДГ	1	3.90 ± 1.29	1.60 ± 0.22	6.83±0.20	2.71±0.38	10.42±1.23
МГДГ	0.29	н.у.	1.89 ± 0.75	6.77±0.31	1.33±0.07	5.60±0.39
Молекулярный вид	Содержание, % в классе липидов					
ЭВ						
13:0/14:0 ²	–	–	–	–	0.62±0.11	–
13:0/15:0	–	0.61±0.21	–	1.25±0.20	0.43±0.14	2.00±0.28
14:0/14:0	–		–		–	
16:2/14:0; 14:0/16:2	–	–	1.07 ± 0.33	–	–	–
14:2/16:1; 14:0/16:1; 16:1/14:0	–	–	0.39 ± 0.12	–	–	–
16:0/14:0; 14:0/16:0	5.58	11.37±1.83	3.88 ± 0.30	4.37±0.40	6.32±0.50	5.15±0.60
16:0/15:0	–	0.10±0.04	–	–	–	–
16:1/16:0	0.37	0.19±0.07	–	–	–	–
16:1/16:0; 16:0/16:1	2.1	2.91±1.54	–	0.56±0.06	4.69±0.73	2.03±0.39
16:3/16:1	–	–	2.34 ± 0.93	–	–	–
16:2/16:1; 32:5	–	–	1.39 ± 0.60	–	–	–
16:2/16:0; 16:0/16:2	–	–	18.73 ± 4.89	–	–	–
16:2/16:1; 14:1/16:2	–	–	4.62 ± 0.97	–	–	–
16:0/16:0	38.89	67.30±2.76	27.56 ± 2.02	43.91±0.99	54.43±1.52	50.22±1.88
17:0/16:0	0.2	0.19±0.10	–	1.32±0.04	–	0.87±0.41
18:0/15:0		–	–	–	–	–
16:3/18:1; 16:3/18:1; 16:2/18:1	–	–	2.01 ± 0.52	–	–	–

Продолжение таблицы 1

18:0/16:2	–	–	9.84 ± 0.34	0.26±0.05	–	–
16:0/18:2	–	–	1.05 ± 0.21	–	2.49±0.42	0.50±0.37
16:2/18:0	–	–		–	–	–
16:1/18:2	–	0.05±0.08	–	–	–	–
18:2/16:1	–	–	1.95 ± 0.11	–	–	–
16:0/18:1	1.7	3.82±1.22	–	2.46±0.08	6.28±0.45	3.98±0.33
16:0/18:1	–	–	–		1.86±0.15	
16:1/18:0	–	0.48±0.47	–	–	–	–
18:0/16:1	1.51	–	–	–	–	–
16:0/18:0	38.21	–	–	–	11.12±0.54	14.67±0.58
18:0/16:0		6.98±0.31	16.45 ± 4.63	26.02±0.48		
19:0/16:0; 17:0/18:0	0.7	0.17±0.10	–	–	–	–
18:0/18:2; 16:2/20:0; 18:0/18:2	–	–	3.00 ± 0.55	–	–	–
18:2/18:1; 18:1/18:2	–	–	0.46 ± 0.19	–	–	–
16:1/20:2; 18:3/18:0	–	0.10±0.04	–	–	–	–
16:0/20:1	–	–	–	–	1.95±0.09	–
18:0/18:1	1.5	–	–	0.80±0.02		1.75±0.44
16:0/20:1; 20:1/16:0	–	1.04±0.24	–	–	0.53±0.06	
18:1/18:0	–		–	–	–	–
16:0/20:0	–	1.72±0.29	–	3.82±0.27	2.48±0.36	3.50±0.31
18:0/18:0	4.88	–	1.99 ± 0.88			
20:0/16:0	–	–		–	–	–
37:0	–	0.02±0.04	–	–	–	–
18:0/21:0	–	–	–	–	0.22±0.03	–
16:2/22:0	–	–	0.67 ± 0.72	–	–	–
16:0/22:0	0.61	–	–	–	0.70±0.19	1.07±0.21
18:0/20:0; 20:0/18:0		–	–	1.19±0.23	–	–
40:0	–	0.10±0.11	–	0.77±0.38	–	–
другие	3.75	1.43±0.87	2.58 ± 1.75	14.26±1.98	5.89±0.76	13.27±0.43
насыщенные ЭВ	83.49	83.78±5.52	49.89±7.20	81.33±0.46	75.05±2.03	76.61±2.77
ненасыщенные ЭВ	7.18	8.59±2.55	47.53±8.18	4.08±0.08	17.79±1.68	8.26±1.50
ЭВ с нечетным числом атомов С	0.9	0.48±0.23	–	2.57±0.17	1.27±0.27	2.87±0.62
ТГ/МАДАГ						
16:2/16:0/14:0³	–	–	–	10.95±0.20	–	5.11±0.77
14:0/16:0/16:0	–	5.00±0.84	–	5.15±0.74	1.65±1.09	–
18:3/16:0/14:0; 14:0/16:0/14:0		3.03±0.44	–	–	–	–
18:3/16:0/18:3	–	2.11±1.19	–	–	–	–
22:6/16:0/14:0	–	2.09±0.52	–	2.88±0.22	–	7.79±0.39
22:6/16:0/18:3; 18:3/16:0/16:1	–	4.58±0.66	–	–	–	–
22:5/16:0/16:0	–	–	–	–	7.20±3.81	–

Продолжение таблицы 1

20:4/16:0/20:4	–	–	–	–	2.32±3.15	–
20:5/16:0/16:0	–	1.84±0.56	–	–		–
16:2/16:0/22:6	–	–	–	7.91±0.71	–	4.66±1.20
22:5/16:0/18:0	–	–	–	–	1.46±0.21	–
16:2/16:0/16:2	0.43	–	1.80 ± 0.98	2.80±0.06	–	22.69±0.99
16:4/16:0/16:0	0.15	–		–	–	–
22:6/16:0/22:6	–	–	–	2.98±0.23	–	–
18:4/16:0/16:0	0.36	6.62±0.52	1.93 ± 0.38		–	–
22:6/32:1	–		–	5.09±0.12	–	9.23±0.29
16:2/16:0/16:0	7.68	–	7.41 ± 2.87	2.61±0.12	–	–
18:3/16:0/16:0	0.19	19.44±1.58	–	–	2.27±1.97	–
20:4/16:0/16:0	0.41	–	–	–	3.42±1.43	–
20:3/16:0/16:0	–	2.19±0.55	–	–	–	–
16:1/16:0/16:0	2.30	15.53±2.94	–	–	3.29±0.57	–
22:6/16:0/16:0			–	2.30±0.51		4.96±0.95
18:2/16:0/16:0	0.95	1.44±0.36	3.51 ± 0.40	–	–	–
18:1/16:0/16:0	2.30	7.66±1.77	–	3.79±0.68	–	–
22:6/16:0/18:0	–	–	–	2.71±0.54	–	5.57±1.39
18:1/18:1/16:0; 20:4/16:0/18:0	–	–	–	–	1.67±0.29	–
18:3/18:0/18:3	–	1.30±0.91	–	–	–	–
18:3/18:1/16:0	–	1.95±0.17	–	–	–	–
22:6/34:1	–	2.66±1.05	–	–	–	–
18:3/18:0/16:0	–	1.91±0.43	–	–	–	–
22:6/18:0/18:0	–	0.95±0.21	–	–	–	–
18:1/18:0/16:0	–	1.70±0.62	–	–	–	–
18:3/18:4/18:3	–	–	–	40.71±1.26	–	22.35±4.16
<i>m/z</i> 813.8 ³	–	–	3.24 ± 0.20	–	–	–
16:0alk/16:3/16:0 ³ ; 20:4/16:0/16:0	0.69	–	2.07 ± 0.61	–	–	–
16:0/16:0/18:0	3.69	–	1.61 ± 0.75	–	10.09±2.22	–
18:0alk/18:3/16:0	0.86	–		–	1.60±0.34	–
16:0/16:0/16:0	18.09	11.02±1.63	9.17 ± 1.97	–	10.54±2.65	–
16:0alk/20:5/16:0	–	–	–	–		–
18:0alk/18:0/16:0	1.03	–	–	–	–	–
16:0alk/18:3/16:0		–	6.91 ± 1.32 (без 16:0/18:1/16 :0)	–	7.63±1.15	–
16:0/18:1/16:0	–	–		–		–
16:0alk/16:1/16:0	1.41	–		–	–	–
18:0alk/16:3/16:0	–	–		–	–	–
16:0alk/22:5/18:0	–	–	–	–	2.62±1.03	–
18:0alk/22:5/16:0	0.55	–	–	–		–
18:0/18:0/16:0		0.72±0.62	–	–	–	–

Продолжение таблицы 1

18:0alk/16:0/16:0; 16:0alk/16:0/18:0	17.77	—	5.55 ± 1.58	—	—	—
18:0alk/16:0/16:0; 16:0alk/16:0/18:0	0.35	—	—	—	—	—
16:0alk/16:0/16:0	12.14	—	3.78 ± 1.29	—	0.79 ± 0.70	—
16:0alk/22:5/16:0	—	—	—	—	5.36 ± 1.73	—
16:0alk/16:2/16:0	2.65	—	—	—	—	—
16:0alk/20:4/16:0	1.59	—	4.99 ± 0.47	—	12.72 ± 1.64	—
16:0alk/18:2/16:0	0.91	—		—	—	—
18:0alk/18:4/16:0	0.63	—		—	—	—
18:0alk/20:4/18:0	0.29	—	—	—	—	—
18:0alk/16:2/16:0	0.43	—	10.94 ± 1.57	—	—	—
18:0alk/16:2/16:0	4.74	—	—	—	—	—
18:0alk/16:1/16:0	4.07	—	—	—	—	—
18:0alk/20:4/16:0	2.96	—	3.19 ± 0.96	—	10.58 ± 1.40	—
18:0alk/18:2/16:0	1.43	—	2.83 ± 0.64	—	—	—
18:0alk/18:2/16:0	0.19	—	—	—	—	—
18:0alk/16:2/18:0	0.09	—	0.93 ± 0.28	—	—	—
18:0alk/18:1/16:0	1.28	—	—	—	—	—
18:0alk/18:3/18:0	—	—	—	—	2.11 ± 0.46	—
18:0alk/20:4/18:0	0.43	—	—	—		—
18:0alk/24:5/16:0	0.18	—	—	—	—	—
18:0alk/18:2/18:0	0.12	—	—	—	—	—
18:0alk/16:0/18:0	1.13	—	—	—	—	—
Другие	5.57	6.27 ± 1.10	30.13 ± 1.02	39.99 ± 3.96	12.69 ± 4.36	50.81 ± 1.75
ФЛ						
ФХ						
32:4alk	—	—	0.79 ± 0.35	—	—	—
16:0alk/16:3 ⁴	5.84	—	1.77 ± 0.15	—	—	—
16:0alk/16:2	7.27	—	6.82 ± 0.77	—	—	—
32:1alk	—	—	0.78 ± 0.22	—	—	—
16:0alk/18:4	7.95	0.12 ± 0.08	8.06 ± 0.32	—	—	—
16:0alk/18:3	—	0.67 ± 0.03	5.29 ± 0.32	—	—	—
16:0alk/18:2	6.47	0.69 ± 0.03	5.69 ± 0.72	—	—	—
18:1alk/16:0	2.95	1.20 ± 0.09	1.25 ± 0.06	—	—	—
16:1alk/20:5	1.94	0.64 ± 0.16	0.58 ± 0.20	—	—	—
16:1alk/20:4	1.69	—	1.77 ± 0.47	—	5.08 ± 1.30	6.09 ± 1.30
16:0alk/20:5	—	19.20 ± 0.96	—	—	—	—
16:0alk/20:4	15.68	18.27 ± 1.07	18.31 ± 0.16	—	15.30 ± 3.12	23.78 ± 3.54
16:0alk/20:3	—	—	—	—	2.59 ± 0.50	6.74 ± 1.31
18:0alk/18:3	4.04	—	4.12 ± 0.32	—	—	—
18:0alk/18:2	2.6	—	1.54 ± 0.58	—	—	—

Продолжение таблицы 1

36:2alk	–	–	–	–	2.10±0.47	–
18:0alk/18:1	1.69	0.76±0.06	0.56 ± 0.01	–	–	–
16:0alk/22:6	2.58	–	1.63 ± 0.18	–	–	–
16:0alk/22:5	–	13.03±0.55	–	–	10.23±0.97	20.30±1.77
16:0alk/22:4	–	15.22±0.84	–	95.89±1.20	–	13.88±1.71
18:1alk/20:4	2.45	–	2.23 ± 0.17	–	–	–
18:0alk/20:4	20.17	–	25.57 ± 2.34	–	–	–
18:0alk/20:3	1.65	–	2.96 ± 0.26	–	–	–
38:3alk	–	–	–	–	1.08±0.20	–
38:2alk	–	–	–	–	2.62±0.34	–
16:1alk/22:0	–	–	–	–	1.88±0.62	1.15±0.19
39:5alk	–	–	1.96 ± 0.10	–	–	–
17:1alk/20:4	–	–	–	2.65±0.38	1.47±0.31	1.40±1.46
18:1alk/22:6	2.89	–	–	–	–	–
18:1alk/22:5	2.44	–	0.84 ± 0.06	–	–	–
18:0alk/22:5	–	3.95±0.49	–	–	5.64±0.76	4.84±0.94
16:0alk/24:5	1.22	–	0.72 ± 0.09	–	–	–
18:0alk/24:5	0.64	–	1.91 ± 0.30	–	–	–
18:0alk/22:4	–	–	1.63 ± 0.15	–	5.80±0.67	2.36±0.61
20:0alk/20:4	–	4.85±0.10		–		
42:6alk	–	–	0.35 ± 0.07	–	–	–
42:5alk	–	–	–	–	1.29±0.17	–
22:0alk/20:4	–	–	–	–	1.57±0.45	–
34:2	–	–	0.89 ± 0.51	–	–	–
36:1	–	–	–	–	1.38±0.22	–
16:0/20:5 ⁴	–	–	–	–	1.74±0.69	–
16:0/20:4	–	2.06±0.05	–	–	2.08±1.00	1.92±1.70
16:0/20:3	–	1.48±0.11	–	–	1.22±0.66	–
38:6	–	4.60±0.29	0.62 ± 0.28	–	–	–
18:0/20:5	–	5.15±0.42	–	–	–	–
16:0/22:4	–	–	–	–	11.42±1.28	–
38:4	–	3.11±0.15	1.26 ± 0.10	–	–	–
22:3/16:0	–	–	–	–	1.02±0.16	–
18:2/20:0	–	–	–	–	1.34±0.24	–
18:1/20:0	–	–	–	–	0.96±0.22	–
39:7	–	–	0.08 ± 0.11	–	–	–
17:0/22:5	–	–	–	–	6.70±2.06	2.39±1.69
17:0/22:4	–	–	–	–	4.20±0.06	1.24±0.46
40:6	–	1.43±0.04	–	–	–	–
40:5	–	2.22±0.14	–	–	–	–
18:0/22:4	–	1.33±0.24	–	–	–	–
19:0/22:5	–	–	–	–	1.44±0.35	–
Другие	13.68		–	0.63±0.48	4.21±0.78	13.90±4.82

Продолжение таблицы 1

диацильные	0	21.38±0.36	2.86±0.99	–	40.94±2.19	19.61±7.97
ацил/алкил	86.32	78.62±0.36	97.14±0.99	98.53±1.49	55.04±0.48	80.55±8.34
ФЭ						
16:1alk/17:1	–	–	–	–	8.16±1.36	4.56±0.86
17:1alk/17:1	–	–	–	–	1.93±0.71	11.39±2.85
18:1alk/16:2	–	–	0.49 ± 0.04	–	–	–
18:1alk/17:1	1.82	–	–	–	6.76±0.55	7.52±0.68
16:1alk/20:5	–	9.25±1.67	–	–	–	–
16:1alk/20:4	2.53	23.51±7.02	10.43 ± 0.94	–	14.04±1.41	11.04±0.98
16:0alk/20:4	1.42	–	1.92 ± 0.66	–	1.94±0.21	3.43±0.84
18:1alk/18:2	2.07	–	0.31 ± 0.17	–	–	–
19:1alk/17:1	4.49	–	0.44 ± 0.07	–	1.57±0.23	–
17:1alk/20:4	0.58	–	0.58 ± 0.07	–	1.90±0.26	3.28±1.99
38:7alk	–	0.05±0.06	–	–	–	–
18:1alk/20:5	–	–	–	–	4.41±0.88	–
18:1alk/20:5	–	11.83±2.00	–	–	–	–
18:1alk/20:4	42.54	40.71±2.68	51.26 ± 4.07	–	28.13±1.26	40.71±6.87
16:1alk/22:4	–	–	–	–		–
18:1alk/20:3	–	–	–	–	5.75±0.13	7.17±1.47
18:0alk/20:4	4.89	–	13.60 ± 1.12	–	–	–
18:1alk/20:0	0.83	–	–	–	–	–
19:1alk/20:4	4.61	1.45±0.65	8.02 ± 0.80	–	–	–
20:1alk/20:4	–	9.06±3.45	–	–	–	–
20:3alk/20:0OH	7.01	–	–	–	–	–
20:3alk/21:0OH	4.37	–	–	–	–	–
18:1alk/22:5	–	2.37±1.46	–	–	2.65±0.27	0.66±0.48
18:1alk/22:4	–	–	–	–	6.44±0.28	2.19±1.19
18:0alk/22:4; 20:0alk/20:4	–	–	–	–	1.85±0.12	–
18:1alk/22:2	–	–	–	–	5.09±1.84	–
18:1alk/24:5	3.1	–	5.14 ± 0.32	–	–	–
18:0alk/24:5	2.86	–	5.76 ± 0.81	–	–	–
18:1alk/24:3	–	–	–	–	2.25±0.43	0.41±0.72
20:3alk/22:0OH	8.11	–	–	–	–	–
16:2/20:4	4.21	–	–	–	–	–
18:1/20:4	–	–	1.47 ± 0.98	–	2.33±0.21	–
18:0/20:4	–	–	–	–	1.08±0.08	–
19:1/20:4	2.19	–	0.57 ± 0.49	–	–	–
20:1/20:4	2.4	–	–	–	–	–
18:1/22:6	–	–	–	–	–	4.39±2.21
18:0/22:5	–	–	–	–	1.60±0.73	0.39±0.16
18:0/22:4	–	1.77±0.13	–	–	1.75±0.12	–
Другие	–	–	–	–	4.48±0.52	4.33±1.09

Продолжение таблицы 1

ацил/алкил	91.23	98.23±0.13	97.96±1.46	–	90.56±1.73	92.36±2.15
ФС						
18:1alk/20:4	–	–	–	–	10.79±5.23	–
18:1alk/20:3	–	–	–	–	2.13±0.52	–
18:1alk/20:2	–	–	–	–	2.87±0.17	–
18:1alk/22:5	–	–	–	–	2.12±0.03	–
18:1alk/22:4	–	–	–	–	14.43±2.54	–
18:0alk/22:5	0.8	–	–	–	3.34±1.44	–
18:1alk/22:3	–	–	–	–	3.34±0.01	–
18:1alk/22:2	–	–	–	–	13.35±0.60	–
18:1alk/23:2	–	–	–	–	1.71±0.77	–
18:1alk/24:4	–	–	–	–	1.95±0.06	–
18:1alk/24:3	–	–	–	–	9.32±0.42	30.74±12.32
18:1alk/24:2	–	–	–	–	7.33±0.41	39.47±7.45
16:0alk/24:5	–	–	0.99 ± 0.18	–	–	–
18:0alk/24:6	12.17	–	8.65 ± 1.01	–	–	–
18:0alk/24:5	80.35	–	85.27 ± 3.59	–	–	–
19:1alk/24:5	–	–	0.62 ± 0.13	–	–	–
20:0alk/24:6	–	–	0.42 ± 0.01	–	–	–
18:0/20:3	–	–	–	–	1.53±0.14	–
18:0/22:5	–	7.56±1.08	–	–	–	–
18:0/22:4	–	78.26±2.37	–	–	25.91±1.72	29.78±18.82
19:0/22:4	–	2.63±0.43	–	–	–	–
20:1/22:4	–	4.73±0.81	–	–	–	–
20:0/22:4	–	2.96±1.27	–	–	2.87±0.06	–
22:5/22:4	–	–	–	–	2.13±0.83	–
Другие	6.75	–	–	–	1.08±0.28	–
алкил/ацильные	93.32	–	100	–	62.77±4.02	70.22±18.82
C ₃₇ H ₇₂ N O ₁₀ P ⁵	н.у.	–	0.52 ± 0.19	н.у.	н.у.	н.у.
C ₃₇ H ₇₄ N O ₁₀ P	н.у.	–	0.49 ± 0.41	н.у.	н.у.	н.у.
C ₄₄ H ₈₂ N O ₁₂ P	н.у.	–	1.17 ± 1.10	н.у.	н.у.	н.у.
C ₄₃ H ₈₀ N O ₁₂ P	н.у.	–	1.47 ± 0.41	н.у.	н.у.	н.у.
C ₄₅ H ₈₂ N O ₁₂ P	н.у.	–	0.40 ± 0.41	н.у.	н.у.	н.у.
C ₄₇ H ₈₆ N O ₁₂ P (18:0/23:3 (2ОН))	н.у.	2.06±0.33	–	н.у.	н.у.	н.у.
C ₄₈ H ₈₈ N O ₁₂ P (18:0/24:3 (2ОН))	н.у.	1.80±1.59	–	н.у.	н.у.	н.у.
ФИ						
16:0alk/20:4	–	–	–	–	1.83±0.09	–
18:0alk/20:5	–	2.09±0.08	–	–	–	–
18:0alk/20:4	–	3.13±0.29	–	–	6.32±0.60	–
16:0alk/22:4	–	–	–	–		–
18:0alk/22:4	1.1	–	2.82 ± 1.02	–	1.56±0.26	–
18:0alk/24:5	–	–	3.48 ± 0.92	–	–	–

Продолжение таблицы 1

16:0/22:6	–	10.32±0.15	–	–	2.12±0.72	44.65±1.82
16:0/22:5	–	–	–	–	1.11±0.09	–
16:0/22:4	–	1.28±0.39	1.18 ± 0.36	–	2.07±0.14	–
18:0/22:6	2.59	3.07±0.52	3.36 ± 1.26	–	–	4.08±0.29
18:0/22:5	6.13	18.12±2.40	4.60 ± 0.73	–	22.39±0.55	11.22±0.78
18:0/22:4	12.17	56.61±2.21	26.79 ± 2.21	–	59.10±1.70	40.06±2.35
19:0/22:4	–	3.08±0.15	–	–	1.31±0.09	–
20:0/22:4	–	–	–	–	1.33±0.02	–
18:0/24:6	15.51	–	8.46 ± 1.94	–	–	–
18:0/24:5	62.06	–	49.30 ± 1.09	–	–	–
Другие	0.44	2.29±0.80	–	–	1.30±0.16	–
диацильные	98.46	92.48±0.99	93.69±1.93	–	88.99±0.45	100
ЦАЭФ						
18:2b/16:0	60.99	25.98±1.86	57.22 ± 2.74	–	19.39±1.25	35.39±8.85
18:1b/16:0	17.47	2.90±0.29	16.02 ± 0.73	–	–	6.42±2.21
18:0b/16:0	10.28	–	7.24 ± 0.97	–	–	0.22±0.17
18:2ОНb/16:0	–	43.12±6.62	–	–	–	–
18:2b/16:0ОН	6.2	–	17.43 ± 2.30	–	–	–
19:2ОНb/16:0	–	6.89±0.58	–	–	–	–
18:3ОНb/16:0ОН	–	16.98±7.26	–	–	–	–
Me-N 18:2b/16:0ОН ⁶	–	–	–	–	14.22±0.80	10.78±5.32
Me-N 18:1b/16:0ОН	–	–	–	–	2.06±0.42	–
Me-N 18:0b/16:0	–	–	–	–	3.43±1.76	–
Me-N 18:1b/16:0	–	–	–	–	7.33±2.50	9.91±2.96
Me-N 18:2b/16:0	–	–	–	–	31.82±0.14	31.26±2.32
Me-N 19:2b/16:0	–	–	–	–	11.44±2.00	3.39±0.56
Me-N 20:1b/16:0; Me-N 18:1b/18:0	–	–	–	–	1.30±0.27	–
Другие	5.07	4.13 ± 1.32	1.38 ± 0.02	–	9.50±1.49	1.66±0.21
ЛФХ						
20:0alk	–	11.01±8.96		–	?	?
18:0alk	78.1	35.99±7.98	84.95 ± 3.37	–	?	?
16:0alk	21.9	56.67±8.90	15.05 ± 3.37	–	?	?
ГЛ						
СХДГ						
14:0/14:0	1.83	2.79±1.11	1.37 ± 0.15	0.04±0.06	1.92 ± 1.25	2.27±0.61
12:0/16:0	–	–	–	–		–
14:2/16:0	4.63	–	4.87 ± 0.45	2.29±0.89	–	1.10±0.43
14:1/16:0	15.24	35.91±3.68	18.58 ± 1.08	17.67±2.74	19.56 ± 0.14	24.13±4.61
14:0/16:1	–		–	–	–	–
14:0/16:0	50	52.60±10.9 0	49.01 ± 1.65	48.27±2.41	57.63 ± 4.63	60.26±3.39

Продолжение таблицы 1

32:4	–	–	0.69 ± 0.09	–	–	–
16:0/16:3	2.44	–	3.25 ± 0.09	–	–	–
16:0/16:2	4.88	–	8.98 ± 0.46	–	–	–
16:1/16:0	–	2.15 ± 0.89	–	4.11 ± 1.51	3.67 ± 1.47	0.35 ± 0.29
16:0/16:0	17.32	6.54 ± 5.36	13.25 ± 0.55	14.02 ± 1.21	13.40 ± 3.16	7.94 ± 0.33
16:0/22:6	–	–	–	13.04 ± 0.64	3.92 ± 1.43	1.92 ± 0.73
ДГДГ						
32:2	–	0.17 ± 0.26	–	–	–	–
16:0/16:1	–	1.48 ± 0.82	–	–	–	–
16:0/16:3; 16:1/16:2	–	–	5.09 ± 0.46	–	–	–
16:3/18:4	11.73	0.98 ± 0.10	14.11 ± 1.46	–	–	–
16:2/18:4	–	–	2.81 ± 0.29	–	–	–
16:1/18:3	–	0.77 ± 1.05	–	–	–	–
34:3	–	1.35 ± 0.23	–	–	–	–
34:2	–	0.93 ± 0.30	–	–	–	–
18:4/18:5	16.2	8.60 ± 1.23	9.11 ± 2.44	6.56 ± 1.31	11.66 ± 2.22	9.20 ± 3.02
18:4/18:4	42.46	24.28 ± 3.05	35.40 ± 2.36	51.32 ± 9.85	21.99 ± 1.44	18.69 ± 3.03
16:3/20:5	–					
18:3/18:4	–		–	14.77 ± 4.20	2.76 ± 0.56	7.73 ± 2.26
18:3/18:3; 16:1/20:5	–	1.98 ± 2.15	–	–	–	–
18:5/20:5	–	14.85 ± 2.89	–	4.71 ± 0.97	18.23 ± 0.26	14.13 ± 3.81
18:4/20:5	29.61	22.46 ± 6.43	30.29 ± 1.14	22.51 ± 2.62	41.74 ± 2.86	37.52 ± 1.78
16:3/22:6	–	–		–	–	–
18:3/20:5; 16:2/22:6	–	4.22 ± 2.80		6.63 ± 0.41	–	12.54 ± 1.57
16:1/22:6; 18:2/20:5	–	1.72 ± 1.05		–	–	–
18:4/22:6	–	1.01 ± 0.31	3.18 ± 0.56	1.27 ± 1.12	–	4.29 ± 0.87
20:5/20:5	–		–	–	–	–
18:3/22:6	–	3.76 ± 2.39	–	–	–	–
20:5/22:6	–	3.19 ± 2.22	–	–	–	–
44:12/(22:6/22:6)	–	0.28 ± 0.17	–	–	–	–
МГДГ						
30:1	–	0.79 ± 0.40	–	–	–	–
30:0	–	0.42 ± 0.10	–	–	–	–
32:6	–	–	2.19 ± 0.79	–	–	–
32:5	–	–	2.15 ± 0.30	–	–	–
32:4	–	–	4.53 ± 0.56	–	–	–
16:1/16:1	–	1.26 ± 0.57	–	–	–	–
16:0/16:3	–	0.57 ± 0.29	5.73 ± 0.77	–	–	–
16:0/16:2	3.51	–	7.92 ± 1.01	–	–	–
16:0/16:1	–	3.31 ± 1.19	–	–	–	–
16:3/18:5; 16:4/18:4	–	–	8.19 ± 1.48	–	–	–
16:3/18:4	3.64	–	16.37 ± 0.28	–	–	–
34:6	–	1.03 ± 0.22	7.04 ± 0.55	–	–	–

Продолжение таблицы 1

34:7	–	1.34±0.63	–			
16:2/18:3; 16:1/18:4; 14:0/20:5	–	1.64±0.39	–	–	–	–
16:1/18:3; 16:0/18:4; 14:0/20:4	–	1.94±0.16	–	–	–	–
16:0/18:3; 16:1/18:2	–	1.16±0.22	–	–	–	–
16:0/18:2	–	0.78±0.28	–	–	–	–
16:0/18:1	–	0.67±0.09	–	–	–	–
18:4/18:5	8.5	20.57±3.39	15.90 ± 0.37	23.24±3.83	38.18 ± 4.70	45.76±7.12
16:4/20:5	–	–		–	–	–
16:3/20:5	15.59	–	29.98 ± 4.58	30.90±0.71	21.88 ± 0.14	21.11±3.32
18:4/18:4	–	18.29±5.84		–	–	–
18:3/18:4	20	11.18±0.93	–	29.27±6.29	6.69 ± 0.85	8.16±1.16
16:2/20:5	–		–	–	–	–
18:3/18:3; 16:1/20:5; 14:0/22:6	–	5.14±0.44	–	–	–	–
18:5/20:5	3.09	5.31±2.48	–	7.50±0.36	13.00 ± 1.06	10.89±1.31
18:4/20:5	3.68	9.56±4.28	–	9.09±1.51	15.06 ± 0.21	14.09±2.18
18:3/20:5; 16:2/22:6	–	5.42±1.33	–	–	–	–
16:1/22:6	–	2.68±1.10	–	–	–	–
18:4/22:6; 20:5/20:5	–	2.80±0.59	–	–	–	–
18:3/22:6	–	1.97±0.39	–	–	–	–
20:5/22:6	–	1.24±0.15	–	–	–	–
22:6/22:6	–	0.94±0.25	–	–	–	–
БЛ						
ДГКХ						
16:0/18:4				3.06±0.53	12.96 ± 2.56	1.63±0.02
16:0/18:3				0.99±0.44	2.61 ± 0.97	1.55±1.23
14:0/22:6				2.77±0.75	4.60 ± 0.49	3.10±0.84
16:0/20:5				8.34±2.19	9.02 ± 1.42	3.91±1.00
16:0/22:6				39.70±3.35	50.95 ± 1.29	35.43±3.63
18:4/22:6				1.80±0.63	2.05 ± 0.55	1.02±0.78
40:09:00				18.17±3.72	1.42 ± 0.07	29.39±3.03
20:5/22:6				0.36±0.19	2.88 ± 0.80	0.75±0.65
22:6/22:6				2.58±0.60	4.17 ± 0.22	2.57±0.57
18:0/28:7				6.21±0.96	5.83 ± 0.32	–
Другие				20.14 ± 0.90	2.28 ± 0.05	18.08 ± 3.48

Примечание. ¹Данный липид/молекулярный вид установлен не был. ²ЭВ: Количество атомов углерода: количество двойных связей алифатического спирта/количество атомов углерода: количество двойных связей жирной кислоты. ³ТГ : *sn*-1(3) ацил/*sn*-2 ацил/*sn*-1(3); МАДАГ : *sn*-1 алкил/*sn*-2 ацил/*sn*-3 ацил; ТГ неустановленной структуры с *m/z* 813.8. ⁴ФЛ : *sn*-1алкил/*sn*-2ацил; *sn*-1(2) ацил/ *sn*-2(1) ацил. ⁵Брутто формула окисленного ФС. ⁶Церамидметиламиноэтилфосфонат (ЦМАЭФ).

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Таблица 1. Состав молекулярных видов восков (% от суммы ЭВ) шести симбиотических видов кораллов из Южно-Китайского моря (Вьетнам).

Воски	<i>A. acuminata</i>	<i>A. cytherea</i>	<i>T. peltata</i>	<i>S. brassica</i>	<i>C. laciniosa</i>	<i>S. robusta</i>
	Группа СР			Группа СМ		
14:0/14:0 ¹	1.3	0.2	1.1	0.6	–	0.6
16:1/14:0	0.9	–	–	–	–	–
16:0/14:0	10.9	16.6	5.6	20.9	10.1	6.2
14:0/16:0	1.6	–	1.1	–	2.4	5.8
16:0/15:0	–	–	–	–	–	0.5
18:1/14:1	0.6	–	–	–	–	–
16:1/16:1	0.8	–	–	–	–	–
14:1/18:1	0.7	–	–	–	–	–
16:0/16:1	8.1	8.9	1.1	2.6	–	1.2
16:1/16:0	1.8	2.5	0.4	–	–	0.6
18:1/14:0	–	–	0.9	–	–	–
14:0/18:1	–	–	3.4	–	–	–
16:0/16:0	38.8	48.8	33.0	49.5	69.6	61.0
18:1/16:0	2.6	2.7	–	2.0	0.2	0.9
16:0/18:1	23.4	15.4	19.8	3.6	2.8	1.5
16:0/18:1	–	–	1.4	–	–	–
16:0/18:0	2.2	1.6	7.9	6.2	8.5	2.9
18:0/16:0	0.9	1.1	–	5.1	4.4	14.2
18:1/18:1	–	–	1.3	–	–	–
18:1/18:0	–	0.4	–	0.8	–	0.3
18:0/18:1	1.3	–	–	0.7	0.5	0.3
16:0/20:1	3.4	1.7	7.0	–	0.4	–
16:0/20:1	–	–	7.0	–	–	–
18:0/18:0	0.2	–	–	1.0	0.5	0.8
16:0/20:0	0.5	–	2.8	3.2	0.2	1.1
20:0/16:0	–	–	–	–	–	0.7
16:0/21:0	–	–	–	1.4	–	–
16:0/22:1	–	–	4.9	–	–	–
16:0/22:0	–	–	0.4	1.4	–	1.0
18:0/20:0	–	–	–	0.4	–	0.3
18:0/22:0	–	–	–	0.1	–	–
Другие ²	0.2	0.2	0.8	0.5	0.5	0.1
А ³	56.3	68.2	52.0	88.3	95.7	94.7
Б	43.5	31.6	47.2	9.7	3.9	4.8
В	–	–	–	1.4	–	0.5
Г	–	–	–	–	–	–

Примечание. ¹Количество атомов углерода: количество двойных связей алифатического спирта - количество атомов углерода; количество двойных связей жирной кислоты. ²Молекулярные виды восков с процентным содержанием менее 0.5 % и/или не идентифицированные молекулярные виды восков. ³А - сумма насыщенных ЭВ с четным количеством атомов углерода; Б - сумма ненасыщенных ЭВ с четным количеством атомов углерода; В - сумма насыщенных ЭВ с нечетным количеством атомов углерода; Г - сумма ненасыщенных ЭВ с нечетным количеством атомов углерода. СМ - симбиотические мягкие кораллы; СР - симбиотические рифообразующие кораллы.

Таблица 2. Состав молекулярных видов восков (% от суммы ЭВ) трех асимбиотических видов кораллов из Южно-Китайского моря (Вьетнам).

Воски	<i>M. spinosa</i>	<i>M. flora</i>	<i>M. praelonga</i>	Воски	<i>M. spinosa</i>	<i>M. flora</i>	<i>M. praelonga</i>
	Группа АМ				Группа АМ		
14:0/14:0 ¹	–	–	–	18:0/18:1	0.5	2.1	5.9
16:1/14:0	–	–	–	16:0/20:1	0.6	3.9	1.5
16:0/14:0	6.4	8.3	3.8	18:1/18:0	–	0.2	0.6
14:0/16:0	1.9	1.2	0.5	18:0/18:1	–	0.5	4.3
16:0/15:0	1.8	0.5	0.2	16:0/20:1	–	0.7	1.0
15:0/16:0	1.0	–	–	18:0/18:0	6.2	1.0	2.5
16:0/16:1	1.1	2.6	2.9	16:0/20:0	2.3	0.6	3.0
16:1/16:0	–	0.5	–	20:0/16:0	–	1.7	–
16:0/16:0	23.6	33.7	14.9	18:0/19:1	–	–	1.5
17:0/16:0	0.9	0.3	1.1	19:0/18:1	–	–	0.8
15:0/18:0	0.8	–	–	16:0/21:0	1.8	0.8	1.4
16:0/17:0	1.2	0.8	0.4	17:0/22:0	0.5	–	0.9
18:1/16:0	0.6	1.5	–	16:0/22:1	0.9	1.0	0.5
16:0/18:1	5.0	12.1	10.5	20:0/18:1	1.0	0.6	–
16:0/18:1	1.6	2.8	5.4	18:0/20:1	0.9	0.4	2.0
16:0/18:0	10.7	5.6	3.8	18:1/20:0	–	–	0.8
18:0/16:0	5.3	4.1	4.6	16:0/22:1	–	2.0	0.6
16:0/19:1	–	–	2.3	18:1/20:0	–	0.6	0.7
17:0/18:1	–	–	1.2	18:0/20:1	–	0.8	1.3
17:0/18:1	–	–	0.9	20:0/18:1	–	–	0.9
17:0/18:0	1.2	–	0.7	16:0/22:1	–	–	0.3
16:0/19:0	0.8	0.5	0.6	18:1/20:0	–	–	0.6
18:0/17:0	0.7	–	–	18:0/20:1	–	–	1.5
18:1/18:0	1.0	0.4	0.6	16:0/22:0	1.4	0.5	0.7
18:0/18:1	2.5	0.5	–	18:0/20:0	1.9	0.4	2.5
16:0/20:1	–	1.7	2.1	20:0/18:0	1.0	–	–
18:1/18:0	–	1.1	0.7	ЭВ С39:1	0.7	–	1.3
18:0/21:0	0.7	0.4	1.1	18:0/24:1	1.0	–	0.4
22:0/18:1	1.3	1.2	–	24:0/18:1	0.6	–	–
16:0/24:1	0.8	1.1	1.0	18:1/24:0	0.9	–	–
18:0/22:1	0.6	–	1.4	Другие ²	3.6	1.1	0.7

Продолжение таблицы 2

18:1/22:0	0.5	–	0.3	A ³	62.6	57.3	37.0
18:0/22:0	1.0	0.3	0.8	Б	21.3	38.2	47.8
22:0/18:0	1.0	0.1	–	В	11.9	3.4	6.5
20:0/21:0	0.6	–		Г	0.7	–	8.0

Примечание. См. таблицу 1. АМ - асимбиотические мягкие кораллы

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Обесцвечивание мягкого коралла *Sinularia heterospiculata* (Alcionacea, Octocorallia)

Таблица 1

Результаты двухфакторного ANOVA содержаний хлорофилла и липидов мягкого коралла *Sinularia heterospiculata* в зависимости от времени эксперимента (0, 12, 24, 36 ч) и температуры (27 и 33°C). Обозначения: триацилглицеролы (ТГ), моноалкилдиацилглицеролы (МАДАГ), сульфохиновозилдиацилглицеролы (СХДГ), моногалактозилдиацилглицеролы (МГДГ), дигалактозилдиацилглицеролы (ДГДГ), этаноламин- (ФЭ), холин- (ФХ), серин- (ФС), инозитолглицерофосфолипиды (ФИ), церамидаминоэтилфосфонаты (ЦАЭФ), лизо-ФХ (ЛФХ), окисленное производное ФЭ (окФЭ) колоний мягкого коралла *S. heterospiculata*

	Время воздействия				Температура				Время x Температура			
	df	MS	F	P	df	MS	F	P	df	MS	F	P
Хлорофилл (<i>a+b</i>)	3	0.115	7.73	0.002	1	0.686	45.96	0.000	3	0.166	11.13	0.000
18:4n-3	3	0.026	3.96	0.027	1	0.003	0.44	0.516	3	0.013	1.92	0.166
18:3n-6	3	0.000	6.64	0.004	1	0.000	3.01	0.102	3	0.000	0.88	0.471
18:1n-7	3	0.000	15.94	0.000	1	0.001	39.80	0.000	3	0.000	21.88	0.000
20:0	3	0.004	1.64	0.221	1	0.009	3.84	0.068	3	0.011	4.76	0.015
ТГ	3	0.005	0.93	0.449	1	0.062	12.26	0.003	3	0.005	1.08	0.387
МАДАГ	3	0.019	0.90	0.467	1	0.193	9.03	0.009	3	0.040	1.85	0.184
ДГДГ+СХДГ	3	0.828	6.63	0.004	1	0.487	3.90	0.066	3	0.512	4.11	0.024
МГДГ	3	0.986	6.53	0.004	1	1.615	10.69	0.005	3	0.871	5.76	0.007
ФХ	3	0.016	12.85	0.000	1	0.009	7.28	0.016	3	0.017	14.32	0.000
ФЭ	3	0.012	5.57	0.008	1	0.013	6.47	0.022	3	0.004	1.70	0.208
ФИ	3	0.105	23.91	0.000	1	0.169	38.36	0.000	3	0.074	16.69	0.000
ЦАЭФ	3	41.021	34.65	0.000	1	64.368	54.37	0.000	3	16.112	13.61	0.000
ЭВ 34:0-38:0	3	3.818	11.10	0.000	1	0.576	1.67	0.214	3	1.151	3.35	0.046
ЭВ 34:2	3	0.134	3.50	0.040	1	0.013	0.35	0.563	3	0.450	11.75	0.000
ЭВ 34:0	3	0.031	7.24	0.003	1	0.011	2.64	0.124	3	0.002	0.51	0.678
ЭВ 36:2	3	0.120	3.87	0.029	1	0.014	0.47	0.505	3	0.040	1.29	0.313

Продолжение таблицы 1

ТГ16:2/16:0/16:0 ¹	3	0.000	5.58	0.008	1	0.000	56.50	0.000	3	0.000	4.09	0.025
ТГ 18:2/16:0/16:0	3	0.000	22.79	0.000	1	0.000	211.20	0.000	3	0.000	23.04	0.000
ТГ 16:0/16:0/16:0	3	0.000	15.76	0.000	1	0.000	101.04	0.000	3	0.000	9.72	0.001
18:0alk/16:2/16:0 ¹	3	0.000	34.12	0.000	1	0.000	192.59	0.000	3	0.000	21.37	0.000
16:0alk/16:0/16:0	3	0.000	5.69	0.008	1	0.000	23.83	0.000	3	0.000	1.66	0.215
18:0alk/16:0/16:0	3	0.003	11.38	0.000	1	0.013	52.83	0.000	3	0.002	7.20	0.003
НМВ МГДГ	3	36.346	3.19	0.052	1	331.600	29.06	0.000	3	57.612	5.05	0.012
ВМВ МГДГ	3	40.579	1.70	0.206	1	457.984	19.23	0.000	3	77.453	3.25	0.049
16:3/18:4 ДГДГ	3	0.008	4.11	0.024	1	0.004	1.76	0.204	3	0.008	3.85	0.030
16:0/16:2 СХДГ	3	0.001	8.55	0.001	1	0.000	0.68	0.421	3	0.000	1.19	0.346
n-6 ацильный ФИ	3	0.015	13.02	0.000	1	0.012	10.67	0.005	3	0.026	22.09	0.000
n-3 ацильный ФИ	3	0.015	13.02	0.000	1	0.012	10.67	0.005	3	0.026	22.09	0.000
диацильный ФЭ	3	0.065	146.81	0.000	1	0.243	546.71	0.000	3	0.065	146.81	0.000
18:1alk/20:4 ² ФЭ	3	102.275	4.60	0.017	1	249.825	11.23	0.004	3	37.626	1.69	0.209
алкилацильный ФЭ	3	0.030	16.96	0.000	1	0.000	0.19	0.673	3	0.009	5.32	0.010
20:4 ФХ	3	175.897	6.64	0.004	1	29.530	1.12	0.307	3	94.454	3.57	0.038
C ₂₄ ПНЖК ФХ	3	0.390	0.41	0.745	1	9.444	10.03	0.006	3	0.777	0.82	0.499
C _{16,18} ПНЖК ФХ	3	46.098	4.45	0.019	1	34.006	3.28	0.089	3	51.100	4.94	0.013
16:0alk/18:4 ФХ	3	4.630	4.07	0.025	1	4.126	3.63	0.075	3	6.753	5.94	0.006

Примечание. ¹ТГ : sn-1(3) ацил/sn-2 ацил/sn-1(3); МАДАГ : sn-1 алкил/sn-2 ацил/sn-3 ацил. ²ФЛ : sn-1 алкил/sn-2 ацил; sn-1(2) ацил/ sn-2(1) ацил.

Таблица 2

Динамика изменений содержания ЖК (% от суммы ЖК, среднее значение $\pm$ SD, $n = 3$) экспериментальных колоний мягкого коралла *Sinularia heterospiculata* в течении 36-ти часов температурного воздействия (33°C).

ЖК	Время воздействия, ч			
	0	12	24	36
14:0	1.73 $\pm$ 0.22	1.56 $\pm$ 0.13	1.55 $\pm$ 0.09	1.65 $\pm$ 0.17
15:0	0.10 $\pm$ 0.00	0.12 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.02	0.14 $\pm$ 0.02
16:4n-1	0.55 $\pm$ 0.11	0.55 $\pm$ 0.09	0.47 $\pm$ 0.02	0.41 $\pm$ 0.05
16:2n-7	12.26 $\pm$ 0.75	12.17 $\pm$ 0.21	12.41 $\pm$ 1.54	11.65 $\pm$ 1.50
16:1n-9	0.58 $\pm$ 0.04	0.60 $\pm$ 0.06	0.56 $\pm$ 0.11	0.57 $\pm$ 0.01
16:1n-7	2.23 $\pm$ 0.03	2.10 $\pm$ 0.15	2.58 $\pm$ 0.46	2.62 $\pm$ 0.12
16:0	40.36 $\pm$ 1.51	39.00 $\pm$ 2.54	41.46 $\pm$ 5.52	43.03 $\pm$ 2.63
17:0	0.12 $\pm$ 0.03	0.09 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.03	0.13 $\pm$ 0.07
18:3n-6	0.06 $\pm$ 0.03	0.15 $\pm$ 0.05	0.05 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.02
18:4n-3	0.42 $\pm$ 0.12	0.34 $\pm$ 0.06	0.21 $\pm$ 0.08	0.19 $\pm$ 0.06
18:2n-7	5.51 $\pm$ 0.40	5.02 $\pm$ 0.34	4.75 $\pm$ 0.66	4.47 $\pm$ 0.64
18:2n-6	3.73 $\pm$ 0.54	4.16 $\pm$ 0.58	4.75 $\pm$ 0.62	4.54 $\pm$ 0.75
18:3n-3	0.74 $\pm$ 0.09	0.81 $\pm$ 0.11	0.88 $\pm$ 0.09	0.79 $\pm$ 0.12
18:1n-9	2.65 $\pm$ 0.27	2.37 $\pm$ 0.17	2.72 $\pm$ 0.10	2.78 $\pm$ 0.19
18:1n-7	0.26 $\pm$ 0.04	0.31 $\pm$ 0.05	0.50 $\pm$ 0.05	0.65 $\pm$ 0.10
18:0	7.22 $\pm$ 0.53	7.64 $\pm$ 0.30	7.31 $\pm$ 0.83	8.38 $\pm$ 0.64
19:0	0.03 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.00	0.03 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.00
20:4n-6	9.91 $\pm$ 0.68	11.06 $\pm$ 1.81	8.50 $\pm$ 3.80	6.95 $\pm$ 2.47
20:5n-3	1.36 $\pm$ 0.42	1.35 $\pm$ 0.12	0.94 $\pm$ 0.44	0.88 $\pm$ 0.26
20:3n-6	0.34 $\pm$ 0.08	0.41 $\pm$ 0.08	0.39 $\pm$ 0.12	0.37 $\pm$ 0.06
20:2	0.82 $\pm$ 0.19	0.86 $\pm$ 0.13	1.01 $\pm$ 0.01	0.92 $\pm$ 0.07
20:2	0.24 $\pm$ 0.03	0.30 $\pm$ 0.06	0.34 $\pm$ 0.01	0.32 $\pm$ 0.06
20:3	0.08 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.02	0.13 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.03

Продолжение таблицы 2

20:1	0.13 ± 0.04	0.12 ± 0.00	0.14 ± 0.01	0.13 ± 0.01
20:0	0.51 ± 0.07	0.56 ± 0.07	0.61 ± 0.02	0.66 ± 0.01
21:0	0.04 ± 0.01	0.06 ± 0.00	0.07 ± 0.02	0.07 ± 0.02
22:6n-3	2.91 ± 0.28	2.59 ± 0.36	2.41 ± 0.65	2.15 ± 0.29
22:4n-6	0.21 ± 0.02	0.26 ± 0.03	0.23 ± 0.11	0.24 ± 0.06
22:2	0.14 ± 0.03	0.21 ± 0.06	0.18 ± 0.01	0.18 ± 0.02
22:0	0.67 ± 0.53	0.37 ± 0.05	0.47 ± 0.03	0.47 ± 0.02
24:5n-6	3.07 ± 0.17	3.60 ± 0.52	3.03 ± 1.24	3.09 ± 0.66
24:6n-3	0.60 ± 0.03	0.67 ± 0.04	0.69 ± 0.04	0.64 ± 0.08
24:0	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.00	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.02
Другие	0.32 ± 0.06	0.36 ± 0.32	0.32 ± 0.10	0.61 ± 0.07

Таблица 3

Динамика изменения содержания молекулярных видов эфиров восков (WE), триацилглицеролов (ТГ), моноалкилдиацилглицеролов (МАДАГ), сульфохиновозилдиацилглицеролов (СХДГ), моногалактозилдиацилглицеролов (МГДГ), дигалактозилдиацилглицеролов (ДГДГ), этаноламин- (ФЭ), холин- (ФХ), серин- (ФС), инозитолглицерофосфолипиды (ФИ), церамидаминоэтилфосфонаты (ЦАЭФ), лизо-ФХ (ЛФХ), лизо-ФЭ (ЛФЭ), окисленное производное ФЭ (окФЭ) колоний мягкого коралла *S. heterospiculata* в течении 36-ти часового температурного воздействия (33°C). Значения представлены как среднее значение ± SD, *n* = 3.

Молекулярные виды	% от липидного экстракта				% в липидном классе			
	Время воздействия, ч				Время воздействия, ч			
ЭВ	0	12	24	36	0	12	24	36
16:2/14:0 ¹ ;14:0/16:2	0.13 ± 0.04	0.15 ± 0.04	0.16 ± 0.05	0.11 ± 0.05	1.07 ± 0.33	1.06 ± 0.13	1.01 ± 0.03	1.02 ± 0.14
14:2/16:1;14:0/16:1; 16:1/14:2	0.05 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.05 ± 0.02	0.04 ± 0.02	0.39 ± 0.12	0.44 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.37 ± 0.06
16:0/14:0;14:0/16:0	0.45 ± 0.05	0.50 ± 0.09	0.53 ± 0.16	0.36 ± 0.12	3.88 ± 0.30	3.65 ± 0.40	3.49 ± 0.13	3.36 ± 0.14
16:3/16:1	0.28 ± 0.12	0.31 ± 0.11	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	2.34 ± 0.93	2.16 ± 0.35	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
16:2/16:1;32:5	0.16 ± 0.08	0.18 ± 0.09	0.08 ± 0.05	0.08 ± 0.05	1.39 ± 0.60	1.21 ± 0.25	0.47 ± 0.21	0.69 ± 0.29

Продолжение таблицы 3

16:2/16:0;16:0/16:2	2.20 ± 0.68	2.53 ± 0.72	2.59 ± 0.78	1.78 ± 0.71	18.73 ± 4.89	18.01 ± 2.14	16.84 ± 0.62	16.23 ± 0.87
16:2/16:1;14:1/16:2	0.54 ± 0.14	0.68 ± 0.22	0.56 ± 0.25	0.42 ± 0.18	4.62 ± 0.97	4.80 ± 0.38	3.52 ± 0.62	3.83 ± 0.60
16:0/16:0	3.21 ± 0.28	3.42 ± 0.53	3.90 ± 1.01	2.69 ± 0.85	27.56 ± 2.02	24.94 ± 3.39	25.68 ± 1.62	25.10 ± 2.71
16:3/18:1;16:3/18:1; 16:3/18:1	0.24 ± 0.07	0.31 ± 0.13	0.13 ± 0.08	0.15 ± 0.10	2.01 ± 0.52	2.13 ± 0.33	0.82 ± 0.43	1.32 ± 0.64
16:0/18:2;16:2/18:0	0.12 ± 0.03	0.16 ± 0.07	0.17 ± 0.05	0.13 ± 0.05	1.05 ± 0.21	1.12 ± 0.16	1.12 ± 0.08	1.17 ± 0.10
18:0/16:2;16:0/18:2	1.15 ± 0.14	1.72 ± 0.75	2.13 ± 0.81	1.43 ± 0.52	9.84 ± 0.34	11.92 ± 1.70	13.68 ± 1.17	13.08 ± 0.88
18:2/16:1	0.23 ± 0.03	0.39 ± 0.22	0.37 ± 0.20	0.27 ± 0.13	1.95 ± 0.11	2.66 ± 0.69	2.27 ± 0.65	2.45 ± 0.74
18:0/16:0	1.91 ± 0.56	2.31 ± 0.61	2.94 ± 0.90	2.06 ± 0.71	16.45 ± 4.63	16.58 ± 1.82	19.16 ± 0.20	19.01 ± 0.34
18:0/18:2;16:2/20:0; 18:0/18:2	0.35 ± 0.09	0.70 ± 0.42	0.85 ± 0.32	0.58 ± 0.22	3.00 ± 0.55	4.73 ± 1.44	5.49 ± 0.46	5.35 ± 0.37
18:2/18:1;18:1/18:2	0.06 ± 0.03	0.10 ± 0.07	0.08 ± 0.04	0.06 ± 0.03	0.46 ± 0.19	0.63 ± 0.25	0.51 ± 0.12	0.56 ± 0.20
18:0/18:0;20:0/16:0	0.23 ± 0.11	0.30 ± 0.10	0.37 ± 0.07	0.29 ± 0.10	1.99 ± 0.88	2.17 ± 0.38	2.51 ± 0.52	2.73 ± 0.24
16:2/22:0	0.07 ± 0.07	0.06 ± 0.03	0.08 ± 0.03	0.05 ± 0.01	0.67 ± 0.72	0.40 ± 0.09	0.50 ± 0.07	0.44 ± 0.05
Другие	0.29 ± 0.17	0.20 ± 0.08	0.39 ± 0.08	0.38 ± 0.09	2.58 ± 1.75	1.38 ± 0.38	2.62 ± 0.54	3.30 ± 0.90
Сумма ЭВ ²	11.68 ± 1.07	14.08 ± 4.12	15.39 ± 4.78	12.23 ± 4.27				
ТГ и МАДАГ								
16:2/16:0/16:0 ³	0.57 ± 0.28	0.56 ± 0.29	0.60 ± 0.27	0.32 ± 0.05	7.41 ± 2.87	6.41 ± 1.64	6.34 ± 2.24	5.19 ± 0.92
18:2/16:0/16:0	0.26 ± 0.04	0.22 ± 0.07	0.26 ± 0.07	0.16 ± 0.05	3.51 ± 0.40	2.59 ± 0.03	2.84 ± 0.45	2.49 ± 0.36
<i>m/z</i> 813.8 ³	0.24 ± 0.02	0.26 ± 0.12	0.35 ± 0.18	0.19 ± 0.07	3.24 ± 0.20	3.02 ± 0.64	3.70 ± 1.36	2.86 ± 0.30
16:0/16:0/16:0	0.70 ± 0.22	0.80 ± 0.14	0.98 ± 0.36	0.62 ± 0.16	9.17 ± 1.97	9.71 ± 1.62	10.48 ± 2.38	9.77 ± 1.44
18:0alk/16:2/16:0 ²	0.82 ± 0.08	0.96 ± 0.37	1.17 ± 0.15	0.89 ± 0.42	10.94 ± 1.57	11.28 ± 1.57	12.89 ± 1.10	13.33 ± 2.37
16:0alk/16:0/16:0	0.28 ± 0.07	0.30 ± 0.05	0.43 ± 0.14	0.29 ± 0.06	3.78 ± 1.29	3.67 ± 0.55	4.59 ± 0.81	4.58 ± 0.77
18:0alk/20:4/16:0	0.24 ± 0.06	0.27 ± 0.06	0.27 ± 0.17	0.16 ± 0.04	3.19 ± 0.96	3.32 ± 0.66	3.15 ± 2.49	2.53 ± 0.29
18:0alk/18:2/16:0	0.21 ± 0.03	0.23 ± 0.15	0.25 ± 0.11	0.15 ± 0.06	2.83 ± 0.64	2.54 ± 0.84	2.78 ± 1.06	2.27 ± 0.35
18:0alk/16:0/16:0;16:0alk/16:0/18:0	0.41 ± 0.09	0.82 ± 0.10	1.15 ± 0.147	0.58 ± 0.42	5.55 ± 1.58	10.05 ± 1.80	12.77 ± 1.52	9.76 ± 6.47
18:0alk/16:2/18:0	0.07 ± 0.02	0.10 ± 0.05	0.05 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.93 ± 0.28	1.09 ± 0.25	0.54 ± 0.13	0.74 ± 0.24
16:0alk/16:3/16:0;20:4/16:0/16:0	0.16 ± 0.06	0.12 ± 0.06	0.12 ± 0.05	0.08 ± 0.02	2.07 ± 0.61	1.32 ± 0.30	1.25 ± 0.45	1.40 ± 0.52
16:0/16:0/18:0;18:0alk/18:3/16:0	0.12 ± 0.05	0.13 ± 0.04	0.13 ± 0.08	0.12 ± 0.00	1.61 ± 0.75	1.63 ± 0.46	1.53 ± 1.19	2.05 ± 0.66
16:0alk/20:4/16:0;18:0alk/18:4/16:0; 16:0alk/18:2/16:0	0.38 ± 0.05	0.38 ± 0.14	0.35 ± 0.06	0.24 ± 0.07	4.99 ± 0.47	4.44 ± 0.62	3.90 ± 0.39	3.69 ± 0.33

Продолжение таблицы 3

18:4/16:0/16:0	0.14 ± 0.02	0.06 ± 0.04	0.08 ± 0.03	0.05 ± 0.01	1.93 ± 0.38	0.71 ± 0.21	0.83 ± 0.25	0.81 ± 0.36
16:0alk/18:3/16:0;18:0alk/16:3/16:0; 16:4/16:0/16:0; 16:2/16:0/16:2	0.51 ± 0.06	0.46 ± 0.14	0.58 ± 0.26	0.36 ± 0.11	6.91 ± 1.32	5.50 ± 0.77	6.19 ± 1.83	5.61 ± 0.27
16:4/16:0/16:0; 16:2/16:0/16:2	0.14 ± 0.09	0.12 ± 0.09	0.06 ± 0.05	0.04 ± 0.01	1.80 ± 0.98	1.35 ± 0.54	0.68 ± 0.48	0.60 ± 0.22
Другие	2.27 ± 0.28	2.64 ± 0.79	2.30 ± 0.19	2.17 ± 1.11	30.13 ± 1.02	31.37 ± 0.85	25.54 ± 2.80	32.29 ± 6.59
Сумма ТГ и МАДАГ	7.52 ± 0.68	8.43 ± 2.57	9.12 ± 1.56	6.45 ± 2.11				
ФЭ								
16:0/16:1 ⁴	0.00 ± 0.00	0.02 ± 0.01	0.13 ± 0.05	0.20 ± 0.06	0.00 ± 0.00	0.30 ± 0.19	3.92 ± 0.79	9.35 ± 1.38
18:1alk/16:2 ⁴	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.49 ± 0.04	0.20 ± 0.07	0.11 ± 0.05	0.10 ± 0.09
16:1/18:1	0.00 ± 0.00	0.01 ± 0.01	0.09 ± 0.04	0.16 ± 0.05	0.00 ± 0.00	0.18 ± 0.13	2.71 ± 0.53	7.38 ± 1.38
16:0/18:1	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.01	0.50 ± 0.16	1.21 ± 0.47
16:1alk/20:4	0.42 ± 0.05	0.36 ± 0.15	0.18 ± 0.05	0.07 ± 0.01	10.43 ± 0.94	6.05 ± 0.81	5.52 ± 0.60	3.63 ± 0.87
16:0alk/20:4	0.08 ± 0.03	0.06 ± 0.02	0.04 ± 0.01	0.02 ± 0.01	1.92 ± 0.66	1.05 ± 0.17	1.17 ± 0.27	1.18 ± 0.44
18:1alk/18:2	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.31 ± 0.17	0.16 ± 0.03	0.14 ± 0.03	0.10 ± 0.04
19:1alk/17:1	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.44 ± 0.07	0.19 ± 0.10	0.19 ± 0.08	0.10 ± 0.04
17:1alk/20:4	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.02	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.58 ± 0.07	0.29 ± 0.22	0.20 ± 0.05	0.13 ± 0.02
16:0/20:4	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.01 ± 0.01	0.66 ± 0.24	1.58 ± 0.18
18:1alk/20:4	2.09 ± 0.37	3.75 ± 1.07	2.07 ± 0.61	1.16 ± 0.16	51.26 ± 4.07	64.14 ± 3.35	64.38 ± 2.59	56.12 ± 3.60
18:0alk/20:4	0.55 ± 0.08	0.58 ± 0.30	0.30 ± 0.10	0.20 ± 0.06	13.60 ± 1.12	9.55 ± 2.37	9.39 ± 0.43	9.30 ± 1.27
19:1alk/20:4	0.32 ± 0.02	0.18 ± 0.04	0.10 ± 0.05	0.05 ± 0.01	8.02 ± 0.80	3.12 ± 0.26	3.01 ± 0.73	2.25 ± 0.32
18:1/20:4	0.06 ± 0.04	0.27 ± 0.16	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.00	1.47 ± 0.98	4.55 ± 2.32	0.55 ± 0.26	0.59 ± 0.11
19:1/20:4	0.02 ± 0.02	0.05 ± 0.04	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.57 ± 0.49	0.87 ± 0.72	0.03 ± 0.03	0.01 ± 0.01
18:1alk/24:5	0.21 ± 0.01	0.21 ± 0.05	0.11 ± 0.04	0.07 ± 0.03	5.14 ± 0.32	3.68 ± 0.28	3.39 ± 0.12	3.39 ± 0.74
18:0alk/24:5	0.23 ± 0.01	0.32 ± 0.09	0.13 ± 0.04	0.08 ± 0.03	5.76 ± 0.81	5.65 ± 1.22	4.12 ± 0.20	3.58 ± 0.53
Сумма ФЭ	3.67 ± 0.67	4.64 ± 0.91	3.15 ± 1.13	2.55 ± 0.74				
ФХ								
32:4alk	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.02	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.79 ± 0.35	0.45 ± 0.33	0.25 ± 0.21	0.05 ± 0.05
32:3alk	0.07 ± 0.00	0.05 ± 0.03	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.00	1.77 ± 0.15	0.97 ± 0.49	0.75 ± 0.18	0.31 ± 0.26
16:0alk/16:2	0.28 ± 0.03	0.28 ± 0.12	0.13 ± 0.05	0.06 ± 0.01	6.82 ± 0.77	4.86 ± 1.69	4.12 ± 0.13	3.04 ± 0.92

Продолжение таблицы 3

32:1alk	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.78 ± 0.22	0.47 ± 0.24	0.44 ± 0.12	0.32 ± 0.22
16:0alk/18:4	0.33 ± 0.03	0.29 ± 0.10	0.16 ± 0.05	0.07 ± 0.01	8.06 ± 0.32	5.23 ± 1.70	4.99 ± 0.20	3.40 ± 0.75
16:0alk/16:3	0.21 ± 0.03	0.19 ± 0.08	0.10 ± 0.04	0.04 ± 0.00	5.29 ± 0.32	3.33 ± 1.14	3.11 ± 0.77	2.00 ± 0.52
16:0alk/18:2	0.23 ± 0.04	0.34 ± 0.10	0.16 ± 0.05	0.10 ± 0.00	5.69 ± 0.72	5.84 ± 0.01	4.92 ± 0.19	4.72 ± 0.82
18:1alk/16:0	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.02	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.00	1.25 ± 0.06	0.80 ± 0.10	0.77 ± 0.15	0.68 ± 0.28
34:2	0.04 ± 0.02	0.02 ± 0.02	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.89 ± 0.51	0.33 ± 0.27	0.04 ± 0.04	0.00 ± 0.00
16:1alk/20:5	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.06	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.58 ± 0.20	0.44 ± 0.76	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
16:1alk/20:4	0.07 ± 0.02	0.10 ± 0.04	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.03	1.77 ± 0.47	1.68 ± 0.28	1.98 ± 0.21	2.56 ± 0.79
16:0alk/20:4	0.74 ± 0.08	1.10 ± 0.36	0.63 ± 0.21	0.37 ± 0.08	18.31 ± 0.16	18.59 ± 0.75	19.57 ± 0.38	17.72 ± 0.40
18:0alk/18:3	0.17 ± 0.03	0.18 ± 0.08	0.10 ± 0.02	0.07 ± 0.02	4.12 ± 0.32	2.97 ± 0.54	3.18 ± 0.57	3.31 ± 0.15
18:0alk/18:2	0.06 ± 0.03	0.10 ± 0.05	0.06 ± 0.01	0.04 ± 0.00	1.54 ± 0.58	1.61 ± 0.50	1.80 ± 0.22	1.91 ± 0.29
18:0alk/18:1	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.56 ± 0.01	0.25 ± 0.10	0.19 ± 0.05	0.37 ± 0.17
16:0alk/22:6	0.07 ± 0.00	0.08 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.03 ± 0.01	1.63 ± 0.18	1.32 ± 0.05	1.61 ± 0.26	1.53 ± 0.08
18:1alk/20:4	0.09 ± 0.02	0.11 ± 0.04	0.06 ± 0.01	0.04 ± 0.01	2.23 ± 0.17	1.88 ± 0.25	1.81 ± 0.12	1.82 ± 0.26
18:0alk/20:4	1.04 ± 0.15	2.23 ± 0.82	1.30 ± 0.42	0.99 ± 0.35	25.57 ± 2.34	37.73 ± 4.69	40.03 ± 3.09	46.66 ± 7.30
18:0alk/20:3	0.12 ± 0.02	0.22 ± 0.07	0.13 ± 0.02	0.07 ± 0.06	2.96 ± 0.26	3.72 ± 0.49	4.12 ± 0.69	3.82 ± 3.43
38:6	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.03	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.62 ± 0.28	0.69 ± 0.44	0.28 ± 0.17	0.03 ± 0.03
39:5alk	0.08 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.03	0.03 ± 0.00	1.96 ± 0.10	0.78 ± 0.03	1.19 ± 0.51	1.22 ± 0.04
38:4	0.05 ± 0.01	0.07 ± 0.02	0.03 ± 0.02	0.00 ± 0.00	1.26 ± 0.10	1.21 ± 0.47	1.03 ± 0.22	0.14 ± 0.15
18:1alk/22:5	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.04	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.84 ± 0.06	0.57 ± 0.52	0.26 ± 0.45	0.00 ± 0.00
16:0alk/24:5	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.72 ± 0.09	0.50 ± 0.09	0.46 ± 0.05	0.57 ± 0.10
39:5	0.00 ± 0.00	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.08 ± 0.11	0.21 ± 0.18	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
40:4alk	0.07 ± 0.01	0.07 ± 0.02	0.04 ± 0.02	0.02 ± 0.00	1.63 ± 0.15	1.17 ± 0.36	1.09 ± 0.25	1.09 ± 0.19
42:6alk	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.35 ± 0.07	0.18 ± 0.15	0.28 ± 0.12	0.22 ± 0.20
18:0alk/24:5	0.08 ± 0.01	0.12 ± 0.06	0.06 ± 0.03	0.05 ± 0.00	1.91 ± 0.30	2.20 ± 0.97	1.73 ± 0.48	2.49 ± 0.47
Сумма ФХ	4.06 ± 0.47	5.88 ± 1.73	3.23 ± 1.00	2.09 ± 0.40				
ФС								
16:0alk/24:5	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.99 ± 0.18	0.70 ± 0.25	0.54 ± 0.26	0.56 ± 0.17

Продолжение таблицы 3

18:0alk/24:6	0.19 ± 0.04	0.19 ± 0.06	0.11 ± 0.05	0.10 ± 0.00	8.65 ± 1.01	7.23 ± 1.31	5.95 ± 0.39	4.99 ± 1.36
18:0alk/24:5	1.84 ± 0.46	2.34 ± 1.10	1.62 ± 0.62	1.77 ± 0.58	85.27 ± 3.59	85.00 ± 4.76	87.24 ± 3.30	79.96 ± 2.85
19:1alk/24:5	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.62 ± 0.13	0.38 ± 0.05	0.53 ± 0.37	0.63 ± 0.13
20:0alk/24:6	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.42 ± 0.01	0.37 ± 0.16	0.30 ± 0.22	0.35 ± 0.07
C ₃₇ H ₇₂ NO ₁₀ P ⁵	0.01 ± 0.00	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.04 ± 0.02	0.52 ± 0.19	0.63 ± 0.04	1.02 ± 0.31	1.68 ± 0.51
C ₃₇ H ₇₄ NO ₁₀ P	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.49 ± 0.41	0.80 ± 0.54	0.54 ± 0.26	1.53 ± 0.28
C ₄₄ H ₈₂ NO ₁₂ P	0.02 ± 0.02	0.08 ± 0.04	0.05 ± 0.04	0.16 ± 0.05	1.17 ± 1.10	3.05 ± 1.71	2.31 ± 1.14	7.49 ± 0.78
C ₄₃ H ₈₀ NO ₁₂ P	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.00	1.47 ± 0.41	1.31 ± 0.67	0.95 ± 0.37	0.66 ± 0.14
C ₄₅ H ₈₂ NO ₁₂ P	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.05 ± 0.02	0.40 ± 0.41	0.54 ± 0.31	0.60 ± 0.44	2.15 ± 0.33
Сумма ФС	2.15 ± 0.48	2.72 ± 1.16	1.87 ± 0.76	2.21 ± 0.67				
ФИ								
38:4	0.00 ± 0.00	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	1.18 ± 0.36	2.21 ± 0.91	2.13 ± 0.83	0.45 ± 0.10
18:0alk/22:4	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	2.82 ± 1.02	2.75 ± 0.25	3.37 ± 0.41	1.99 ± 1.77
18:0/22:6	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	3.36 ± 1.26	2.45 ± 0.78	0.73 ± 0.53	0.00 ± 0.00
18:0/22:5	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	4.60 ± 0.73	4.13 ± 0.84	3.01 ± 1.13	0.30 ± 0.01
18:0/22:4	0.12 ± 0.02	0.16 ± 0.05	0.09 ± 0.03	0.00 ± 0.00	26.79 ± 2.21	26.93 ± 1.28	30.12 ± 2.96	30.72 ± 3.58
18:0alk/24:5	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.00 ± 0.00	3.48 ± 0.92	3.61 ± 0.59	3.63 ± 0.12	1.26 ± 0.61
18:0/24:6	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.02	0.02 ± 0.00	0.00 ± 0.00	8.46 ± 1.94	7.67 ± 0.69	6.23 ± 1.43	2.85 ± 0.44
18:0/24:5	0.21 ± 0.05	0.29 ± 0.08	0.15 ± 0.04	0.00 ± 0.00	49.30 ± 1.09	50.25 ± 1.77	50.77 ± 2.91	62.42 ± 4.51
Сумма ФИ	0.43 ± 0.09	0.58 ± 0.17	0.30 ± 0.08	0.00 ± 0.00				
ЦАЭФ								
18:2b/16:0	0.63 ± 0.20	0.27 ± 0.05	0.75 ± 0.35	0.81 ± 0.10	57.22 ± 2.74	57.01 ± 4.51	55.51 ± 1.49	54.39 ± 4.58
18:1b/16:0	0.17 ± 0.05	0.06 ± 0.01	0.18 ± 0.09	0.23 ± 0.04	16.02 ± 0.73	12.59 ± 0.16	13.14 ± 0.06	15.61 ± 1.71
18:0b/16:0	0.08 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.08 ± 0.06	0.09 ± 0.02	7.24 ± 0.97	6.51 ± 1.77	5.96 ± 1.93	6.09 ± 0.57
18:2b/16:0ОН	0.21 ± 0.02	0.05 ± 0.00	0.42 ± 0.08	0.22 ± 0.03	17.43 ± 2.30	13.06 ± 2.59	24.80 ± 0.68	24.28 ± 6.73
Другие	0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.00	1.38 ± 0.02	7.37 ± 1.03	0.59 ± 0.22	0.64 ± 0.05
Сумма ЦАЭФ	1.09 ± 0.28	0.48 ± 0.11	1.70 ± 0.38	1.50 ± 0.30				
ЛФЭ								

Продолжение таблицы 3

18:1alk	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.26 ± 0.02	78.73 ± 0.72	60.27 ± 3.91	81.02 ± 3.13	76.45 ± 0.58
18:0alk	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.06 ± 0.00	14.13 ± 1.65	20.74 ± 1.63	14.88 ± 2.37	18.02 ± 1.21
19:1alk	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.01 ± 0.00	1.90 ± 0.54	0.94 ± 0.89	2.40 ± 0.20	2.66 ± 0.15
20:4acyl	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	4.35 ± 2.67	18.00 ± 4.86	0.22 ± 0.20	0.16 ± 0.03
16:1alk	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.89 ± 0.53	0.05 ± 0.09	1.48 ± 0.68	2.71 ± 1.10
Сумма ЛФЭ	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.34 ± 0.03				
ЛФХ								
18:0alk	0.82 ± 0.24	1.00 ± 0.38	0.94 ± 0.46	0.98 ± 0.27	84.95 ± 3.37	89.16 ± 1.90	85.92 ± 1.28	84.87 ± 1.08
16:0alk	0.14 ± 0.02	0.13 ± 0.06	0.16 ± 0.09	0.17 ± 0.03	15.05 ± 3.37	10.84 ± 1.90	14.08 ± 1.28	15.13 ± 1.08
Сумма ЛФХ	0.96 ± 0.26	1.12 ± 0.43	1.10 ± 0.55	1.16 ± 0.30				
окФЭ								
C ₄₇ H ₈₆ NO ₁₁ P ⁵	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	2.26 ± 0.91	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	73.10 ± 2.61
C ₄₅ H ₈₂ NO ₁₁ P	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.81 ± 0.23	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	26.90 ± 2.61
Сумма окФЭ	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	3.07 ± 1.13				
Сумма ФЛ	12.36 ± 2.14	15.40 ± 2.74	10.88 ± 4.09	12.67 ± 3.41				
МГДГ								
32:6	н.у. ⁶	н.у.	н.у.	н.у.	2.19 ± 0.79	0.78 ± 0.33	0.26 ± 0.34	0.00 ± 0.00
32:5	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	2.15 ± 0.30	1.56 ± 0.51	0.12 ± 0.12	0.00 ± 0.00
32:4	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	4.53 ± 0.56	3.48 ± 0.64	1.94 ± 0.99	0.81 ± 1.41
16:0/16:3 ⁷	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	5.73 ± 0.77	3.30 ± 0.41	1.31 ± 0.65	3.45 ± 1.30
16:0/16:2	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	7.92 ± 1.01	5.47 ± 0.10	5.27 ± 1.06	7.33 ± 2.95
16:3/18:5; 16:4/18:4	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	8.19 ± 1.48	8.63 ± 0.90	4.27 ± 1.85	4.02 ± 1.46
16:3/18:4	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	16.37 ± 0.28	19.14 ± 0.90	18.50 ± 2.82	17.78 ± 7.35
34:6	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	7.04 ± 0.55	6.80 ± 1.06	6.62 ± 2.41	5.49 ± 2.33
18:4/18:5; 16:4/20:5	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	15.90 ± 0.37	19.87 ± 1.15	18.76 ± 2.33	17.73 ± 4.93
16:3/20:5; 18:4/18:4	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	29.98 ± 4.58	30.97 ± 3.30	42.95 ± 4.11	43.39 ± 4.40
ДГДГ	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.				
16:0/16:3 ⁷ ; 16:1/16:2	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	5.09 ± 0.46	6.05 ± 1.51	7.16 ± 1.05	6.36 ± 1.40

Продолжение таблицы 3

16:1/16:2	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
16:3/18:4	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	14.11 ± 1.46	11.26 ± 3.59	7.80 ± 0.88	7.53 ± 1.60
16:2/18:4	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	2.81 ± 0.29	2.47 ± 0.12	2.08 ± 0.57	1.87 ± 0.82
18:5/18:4	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	9.11 ± 2.44	8.36 ± 3.01	5.75 ± 0.82	6.32 ± 1.86
18:4/18:4; 16:3/20:5	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	35.40 ± 2.36	33.20 ± 2.11	36.50 ± 0.49	35.99 ± 2.40
18:4/20:5; 16:3/22:6	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	30.29 ± 1.14	36.14 ± 4.43	37.35 ± 1.76	39.73 ± 4.75
18:4/22:6	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	3.18 ± 0.56	2.52 ± 1.38	3.36 ± 0.35	2.21 ± 0.68
СХДГ	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.				
14:0/14:0 ⁷	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	1.37 ± 0.15	1.33 ± 0.54	1.20 ± 0.57	1.32 ± 0.15
14:2/16:0	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	4.87 ± 0.45	4.08 ± 0.86	3.75 ± 0.97	5.79 ± 2.33
14:1/16:0	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	18.58 ± 1.08	15.40 ± 1.81	14.75 ± 1.41	15.09 ± 1.49
14:0/16:0	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	49.01 ± 1.65	49.85 ± 1.28	51.72 ± 4.22	46.96 ± 0.32
C ₄₁ H ₇₀ O ₁₂ S ⁵	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	0.69 ± 0.09	0.41 ± 0.26	0.53 ± 0.27	0.82 ± 0.99
16:0/16:3	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	3.25 ± 0.09	1.89 ± 1.05	2.45 ± 0.75	2.34 ± 0.34
16:0/16:2	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	8.98 ± 0.46	8.15 ± 0.04	8.38 ± 0.43	8.19 ± 0.20
16:0/16:0	н.у.	н.у.	н.у.	н.у.	13.25 ± 0.55	18.89 ± 3.45	17.22 ± 3.78	19.50 ± 3.17
Сумма СХДГ + ДГДГ	1.60 ± 0.22	1.62 ± 0.23	0.78 ± 0.16	0.55 ± 0.11				
Сумма МГДГ	1.89 ± 0.75	1.51 ± 0.04	0.35 ± 0.18	0.32 ± 0.11				

Примечание. ¹ЭВ: Количество атомов углерода: количество двойных связей алифатического спирта/количество атомов углерода: количество двойных связей жирной кислоты. ²Сумма – содержание класса липида, % от липидного экстракта. ³ТГ : *sn*-1(3) ацил/*sn*-2 ацил/*sn*-1(3); МАДАГ : *sn*-1 алкил/*sn*-2 ацил/*sn*-3 ацил; ТГ неустановленной структуры с *m/z* 813.8. ⁴ФЛ : *sn*-1алкил/*sn*-2ацил; *sn*-1(2) ацил/ *sn*-2(1) ацил. ⁵Брутто формула окФС и окФЭ и СХДГ. ⁶Содержание данных липид/молекулярный вид установлен не был. ⁷ МГДГ, ДГДГ, СХДГ: *sn*-1(2) ацил/ *sn*-2(1) ацил

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

Повторное обесцвечивание мягкого коралла *Sinularia heterospiculata* (Alcionacea, Octocorallia)

Таблица 1

Динамика изменения содержания хлорофилла и липидов (эфиров восков (ЭВ), триацилглицеролов (ТГ), моноалкилдиацилглицеролов (МАДАГ), сульфохиновозилдиацилглицеролов (СХДГ), моногалактозилдиацилглицеролов (МГДГ), дигалактозилдиацилглицеролов (ДГДГ), этаноламин- (ФЭ), холин- (ФХ), серин- (ФС), инозитолглицерофосфолипиды (ФИ), церамидаминоэтилфосфонаты (ЦАЭФ), лизо-ФХ (ЛФХ), лизо-ФЭ (ЛФЭ), окисленное производное ФЭ (окФЭ)) колоний мягкого коралла *S. heterospiculata* в течении 72-вух часового температурного воздействия (33°C). Значения представлены как среднее значение $\pm$ SD, $n = 4$.

		Время воздействия, ч					Время воздействия, ч			
	Контроль	0	24	48	72	Контроль	0	24	48	72
		мкг/г мокрого веса					% от сухого веса			
Хлорофилл <i>a</i>	102.04 $\pm$ 22.78	103.11 $\pm$ 13.31	55.38 $\pm$ 9.96	59.25 $\pm$ 21.15	62.89 $\pm$ 7.05					
Хлорофилл <i>b</i>	21.81 $\pm$ 4.54	21.24 $\pm$ 1.61	21.01 $\pm$ 2.69	18.19 $\pm$ 2.36	28.93 $\pm$ 9.94					
Липидный экстракт						8.61 $\pm$ 3.44	6.90 $\pm$ 3.80	4.70 $\pm$ 1.73	1.51 $\pm$ 1.37	1.70 $\pm$ 0.92
		% от липидного экстракта					% от сухого веса			
ЭВ	5.90 $\pm$ 0.66	7.61 $\pm$ 1.02	10.17 $\pm$ 1.54	12.93 $\pm$ 1.66	10.05 $\pm$ 0.94					
ТГ и МАДАГ	8.02 $\pm$ 1.03	5.65 $\pm$ 1.27	3.59 $\pm$ 0.39	10.43 $\pm$ 2.37	5.87 $\pm$ 1.08					
ФЛ	20.91 $\pm$ 5.21	21.68 $\pm$ 3.69	17.49 $\pm$ 3.46	10.20 $\pm$ 3.58	12.33 $\pm$ 0.84	1.83 $\pm$ 1.00	1.56 $\pm$ 1.07	0.82 $\pm$ 0.32	0.13 $\pm$ 0.09	0.21 $\pm$ 0.10
ДГДГ+СХДГ	3.39 $\pm$ 0.23	4.47 $\pm$ 1.28	2.51 $\pm$ 0.47	2.64 $\pm$ 0.66	1.56 $\pm$ 0.59					
		% от липидного экстракта					% от ФЛ			
Сумма ФЭ	6.30 $\pm$ 0.77	6.13 $\pm$ 1.16	5.10 $\pm$ 1.15	2.75 $\pm$ 0.86	2.14 $\pm$ 0.54	29.25 $\pm$ 2.31	28.29 $\pm$ 2.76	29.08 $\pm$ 1.87	27.28 $\pm$ 2.17	17.31 $\pm$ 4.02
Сумма ФХ	7.90 $\pm$ 1.12	8.04 $\pm$ 0.63	6.87 $\pm$ 1.11	4.17 $\pm$ 1.38	3.17 $\pm$ 0.70	36.67 $\pm$ 3.57	37.56 $\pm$ 4.01	39.49 $\pm$ 2.02	41.20 $\pm$ 2.28	25.65 $\pm$ 4.82
Сумма ФС	3.68 $\pm$ 0.96	3.38 $\pm$ 1.09	2.44 $\pm$ 0.49	1.41 $\pm$ 0.37	1.70 $\pm$ 0.29	16.80 $\pm$ 1.54	15.35 $\pm$ 2.37	13.98 $\pm$ 1.14	14.24 $\pm$ 1.58	13.86 $\pm$ 2.64
Сумма ФИ	0.80 $\pm$ 0.31	0.78 $\pm$ 0.29	0.41 $\pm$ 0.07	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	3.60 $\pm$ 0.77	3.51 $\pm$ 0.70	2.35 $\pm$ 0.20	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
Сумма ЦАЭФ и ЛФЭ	1.64 $\pm$ 0.37	1.87 $\pm$ 0.52	1.60 $\pm$ 0.43	1.15 $\pm$ 0.67	2.20 $\pm$ 0.54	7.54 $\pm$ 0.44	8.59 $\pm$ 1.64	9.04 $\pm$ 0.61	10.48 $\pm$ 2.93	17.86 $\pm$ 4.18
Сумма ЛФХ	1.36 $\pm$ 0.54	1.48 $\pm$ 0.49	1.07 $\pm$ 0.40	0.72 $\pm$ 0.34	1.09 $\pm$ 0.24	6.14 $\pm$ 1.62	6.69 $\pm$ 1.18	6.05 $\pm$ 1.56	6.80 $\pm$ 1.07	8.76 $\pm$ 1.35

Продолжение таблицы 1

Сумма ОкФЭ	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	2.03±0.72	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	16.56±5.62
------------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	------------

Таблица 2

Динамика изменения содержания молекулярных видов сульфохиновозилдиацилглицеролов (СХДГ), моногалактозилдиацилглицеролов (МГДГ), дигалактозилдиацилглицеролов (ДГДГ), этаноламин- (ФЭ), холин- (ФХ), серин- (ФС), инозитолглицерофосфолипиды (ФИ), церамидаминоэтилфосфонаты (ЦАЭФ), лизо-ФХ (ЛФХ), лизо-ФЭ (ЛФЭ), окисленное производное ФЭ (окФЭ) колоний мягкого коралла *S. heterospiculata* в течении 72-ух часового температурного воздействия (33°C). Значения представлены как среднее значение $\pm$ SD, $n = 4$.

		% от класса липидов						% от класса липидов			
		Время воздействия, ч						Время воздействия, ч			
Молекулярный вид	Контроль	0	24	48	72	Молекулярный вид	Контроль	0	24	48	72
ФЭ						ФХ					
16:0/16:1 ¹	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	1.74±1.42	4.99±1.86	32:3alk	0.57±0.49	0.57±0.25	0.47±0.20	0.22±0.11	0.09±0.11
18:1alk/16:2 ¹	0.09±0.03	0.14±0.06	0.07±0.03	0.02±0.03	0.00±0.00	16:0alk/16:2	3.40±1.60	3.71±0.82	3.56±1.00	2.61±0.64	1.75±0.75
16:1/18:1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.39±0.14	2.21±0.69	32:1alk	0.56±0.23	0.66±0.14	0.59±0.13	0.49±0.16	0.28±0.17
35:6alk	0.57±0.22	0.45±0.13	0.38±0.25	0.58±0.83	0.37±0.40	16:0alk/18:4	4.70±2.14	4.46±1.19	4.49±1.45	2.90±0.54	1.87±0.58
16:0/18:1	0.00±0.01	0.03±0.06	0.00±0.00	0.05±0.10	0.75±0.30	16:0alk/18:3	3.50±1.20	3.54±0.74	3.50±0.66	2.65±0.52	1.90±0.57
35:5alk	0.22±0.05	0.24±0.04	0.22±0.10	0.04±0.03	0.05±0.07	16:0alk/18:2	5.26±0.45	5.44±0.59	4.68±0.75	5.08±0.83	5.18±0.19
16:1alk/20:4	3.90±1.57	4.34±1.05	4.49±1.11	4.09±0.91	2.76±0.95	18:1alk/16:0	1.09±0.22	1.22±0.22	0.92±0.35	1.11±0.33	1.16±0.08
16:0alk/20:4	1.52±0.40	1.61±0.24	1.84±0.41	1.93±0.22	1.64±0.25	34:02:00	0.15±0.26	0.13±0.15	0.02±0.05	0.00±0.00	0.00±0.00
18:1alk/18:2	0.28±0.19	0.40±0.10	0.35±0.05	0.41±0.03	0.24±0.17	16:1alk/20:5	1.83±0.17	1.40±0.54	1.33±0.46	2.08±0.32	1.55±0.24
19:1alk/17:1	0.23±0.08	0.26±0.11	0.24±0.09	0.16±0.08	0.15±0.08	16:1alk/20:4	1.82±0.36	2.00±0.32	1.96±0.33	2.11±0.32	2.03±0.35
17:1alk/20:4	0.24±0.08	0.40±0.17	0.29±0.11	0.21±0.04	0.16±0.13	16:0alk/20:4	18.19±2.11	18.50±1.59	19.63±1.74	19.02±1.21	18.11±1.76
16:0/20:4	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.42±0.34	0.60±0.36	18:0alk/18:3	4.50±0.25	4.50±0.52	4.57±0.42	4.62±0.41	4.11±0.23
18:1alk/20:4	62.51±3.67	62.58±0.97	61.14±2.92	63.82±2.45	61.17±2.88	18:0alk/18:2	2.09±0.25	2.16±0.33	2.03±0.24	2.55±0.16	2.22±0.17

Продолжение таблицы 2

18:0alk/20:4	14.50±3.08	13.70±1.14	15.02±0.57	14.52±1.32	15.29±1.89	18:0alk/18:1	0.47±0.05	0.50±0.11	0.43±0.06	0.49±0.11	0.48±0.08
19:1alk/20:4	2.85±0.61	4.56±2.19	2.96±1.13	1.49±0.38	1.40±0.39	16:0alk/22:6	1.23±0.25	1.58±0.31	1.46±0.38	1.55±0.42	1.32±0.41
18:1/20:4	4.96±2.57	3.11±2.24	3.58±1.02	2.90±0.71	2.77±2.08	18:1alk/20:4	1.41±0.67	2.02±0.25	1.56±0.05	1.87±0.18	2.11±0.37
19:1/20:4	1.57±0.92	1.03±0.54	1.11±0.33	0.22±0.12	0.17±0.21	18:0alk/20:4	38.97±5.92	38.03±1.96	37.81±3.24	40.67±3.88	44.75±3.24
18:1alk/24:5	3.30±0.36	3.58±0.16	3.58±0.19	3.16±0.19	2.57±0.45	18:0alk/20:3	5.89±0.82	5.71±0.79	6.00±0.53	6.23±0.34	6.87±0.20
18:0alk/24:5	3.26±0.98	3.57±0.45	4.72±1.39	3.86±0.30	2.72±0.41	38:6	0.29±0.11	0.29±0.22	0.54±0.21	0.33±0.08	0.16±0.11
Диацильные ФЭ	6.53±3.44	4.17±2.70	4.69±1.34	5.71±1.25	11.50±4.38	39:5alk	0.42±0.25	0.74±0.61	0.59±0.35	0.34±0.16	0.43±0.23
Алкилацильные ФЭ	93.47±3.44	95.83±2.70	95.31±1.34	94.29±1.25	88.50±4.38	38:4	0.91±0.37	0.82±0.26	0.99±0.25	0.24±0.07	0.00±0.00
ФС						16:0alk/24:5	0.40±0.08	0.40±0.07	0.36±0.06	0.39±0.06	0.35±0.03
16:0alk/24:5	0.49±0.53	0.30±0.25	0.19±0.11	0.13±0.17	0.00±0.00	39:5	0.16±0.17	0.11±0.23	0.17±0.10	0.03±0.03	0.03±0.06
18:0alk/24:6	6.36±0.36	6.75±1.07	5.33±0.18	5.29±0.20	4.56±0.92	40:4alk	0.88±0.41	0.52±0.18	0.77±0.45	0.75±0.06	0.89±0.15
18:0alk/24:5	87.72±2.24	88.13±3.67	91.62±1.12	92.45±0.42	90.17±1.41	42:6alk	0.08±0.10	0.05±0.10	0.10±0.11	0.08±0.08	0.00±0.00
19:1alk/24:5	0.08±0.09	0.14±0.12	0.08±0.14	0.03±0.05	0.00±0.00	18:0alk/24:5	0.96±0.59	0.93±0.55	1.49±0.74	1.60±0.24	2.36±0.64
20:0alk/24:6	0.25±0.28	0.28±0.32	0.06±0.07	0.00±0.00	0.00±0.00	Диацильные ФХ	1.51±0.76	1.36±0.59	1.72±0.52	0.60±0.12	0.19±0.13
C ₃₇ H ₇₄ N O ₁₀ P ²	0.80±0.40	0.45±0.83	0.03±0.03	0.08±0.07	0.76±0.50	Алкилацильные ФХ	98.49±0.76	98.64±0.59	98.28±0.52	99.40±0.12	99.81±0.13
C ₄₄ H ₈₂ N O ₁₂ P	2.09±0.60	1.50±1.44	0.73±0.24	0.64±0.31	3.33±1.00	ЦАЭФ					
C ₄₃ H ₈₀ N O ₁₂ P	2.09±1.07	2.22±0.47	1.96±0.65	1.38±0.20	1.18±0.34	18:2b/16:0	58.82±2.09	57.22±3.45	52.54±3.38	56.54±2.22	55.30±2.00
C ₄₅ H ₈₂ N O ₁₂ P	0.12±0.16	0.24±0.46	0.01±0.01	0.00±0.00	0.00±0.00	18:1b/16:0	18.35±2.34	20.03±1.53	20.05±1.84	21.82±1.48	23.20±1.65
ФИ						18:0b/16:0	1.71±0.21	3.01±1.90	4.12±2.34	2.62±1.13	2.75±0.44
38:4	0.80±0.42	0.78±0.41	2.60±1.00	4.70±0.68	2.44±2.89	18:2b/16:0ОН	16.48±4.05	17.71±2.74	22.18±3.47	18.51±1.61	18.25±2.62
18:0alk/22:4	3.29±1.21	2.11±0.57	3.20±1.34	2.77±0.44	1.51±1.77	Другие	4.64±3.00	2.03±1.09	1.12±0.93	0.51±0.10	0.50±0.07
18:0/22:6	2.46±0.60	2.43±0.95	1.56±0.41	1.07±0.43	0.35±0.40	ЛФЭ					
18:0/22:5	3.36±1.45	3.95±0.88	2.68±0.51	2.24±1.10	0.69±1.05	16:1alk	0.00±0.00	0.03±0.06	0.00±0.00	0.00±0.00	0.55±0.85
18:0/22:4	29.55±1.16	30.69±2.57	29.32±1.54	27.26±2.30	18.02±14.75	18:1alk	56.29±14.02	66.54±10.50	62.78±5.41	68.60±8.08	68.15±1.21

Продолжение таблицы 2

18:0alk/24:5	4.62±1.03	3.00±0.66	7.28±1.48	8.78±1.00	7.95±5.96	18:0alk	17.03±2.45	15.27±0.92	20.30±2.5 5	15.45±2.0 6	25.07±1.7 0
18:0/24:6	4.72±0.33	5.38±0.48	4.32±0.39	3.49±0.54	1.03±1.31	19:1alk	0.00±0.00	0.70±0.99	0.34±0.64	0.19±0.37	0.65±0.50
18:0/24:5	51.20±1.8 4	51.67±3.0 1	49.03±2.4 5	49.70±1.4 0	68.02±23.9 0	20:4	26.68±16.2 4	17.45±11.3 8	16.57±6.5 2	15.77±9.7 6	5.58±2.20
Диацильные ФИ	91.29±2.0 2	94.89±1.1 6	89.51±2.7 7	88.45±1.3 1	90.55±6.72	ЛФХ					
Алкилацильные ФИ	7.91±2.19	5.11±1.16	10.49±2.7 7	11.55±1.3 1	9.45±6.72	18:0alk	86.16±4.94	84.16±2.55	83.01±4.2 3	84.37±4.4 8	88.51±8.1 9
МГДГ						16:0alk	13.84±4.94	15.84±2.55	16.99±4.2 3	15.63±4.4 8	11.49±8.1 9
32:6	0.29±0.26	1.19±1.03	0.48±0.60	0.00±0.00	0.24±0.49	ОкФЭ					
32:5	0.21±0.23	0.53±0.41	0.48±0.64	0.00±0.00	0.20±0.41	C ₅₁ H ₈₆ N O ₈ P ²	0.00±0.00	0.00±0.00	98.15±3.7 0	86.14±7.1 9	77.24±4.7 0
32:4	0.75±0.82	2.10±1.52	0.90±0.61	0.00±0.00	0.97±0.74	C ₄₉ H ₈₂ N O ₈ P	0.00±0.00	0.00±0.00	1.85±3.70	13.86±7.1 9	22.76±4.7 0
16:0/16:3 ³	1.50±1.40	2.67±1.62	1.28±1.58	0.34±0.68	1.67±1.41	ДГДГ					
16:0/16:2	3.30±2.76	6.64±0.74	5.85±2.15	0.91±1.16	1.88±2.23	16:0/16:3 ³ ; 16:1/16:2	5.17±2.03	5.36±1.99	5.73±1.72	5.44±0.72	7.16±2.28
16:3/18:5	7.51±2.42	7.36±1.93	8.16±1.08	5.97±2.32	4.94±1.34	16:0/16:2	4.55±2.04	5.72±2.60	7.15±1.81	5.86±3.01	5.83±2.49
16:3/18:4	17.39±4.2 5	18.56±3.1 3	18.14±1.9 9	18.04±1.5 5	15.03±1.68	16:3/18:4	8.72±3.21	10.34±2.25	8.96±0.90	7.82±2.49	7.63±1.94
34:6	4.46±1.58	4.99±2.02	6.65±0.32	5.59±0.80	5.03±1.05	16:2/18:4	1.26±0.80	1.12±0.35	0.87±0.72	1.26±0.33	1.27±0.46
18:4/18:5;16:4/20:5	18.98±1.0 7	17.63±1.6 4	18.74±1.8 7	20.58±1.0 9	18.56±2.56	16:0/18:4	1.07±0.67	0.96±0.31	1.30±0.51	1.05±0.48	1.92±0.77
16:3/20:5; 18:4/18:4	41.31±5.9 6	30.74±6.9 4	34.71±2.4 9	40.02±3.0 6	41.66±1.10	18:5/18:4	6.22±2.74	8.68±1.05	7.29±2.41	6.49±1.77	6.31±2.32
38:12	0.31±0.30	2.46±1.55	0.69±0.47	1.22±1.32	1.82±1.09	18:4/18:4; 16:3/20:5	31.13±3.57	23.98±8.63	26.49±4.5 5	28.55±4.1 2	31.07±5.4 2
16:3/22:6; 18:4/20:5	3.99±3.16	5.73±2.32	3.91±2.97	7.32±1.84	7.98±0.48	18:5/20:5	6.51±1.13	7.00±1.75	7.05±3.00	6.92±0.84	5.71±1.05
«Прокариотические» МГДГ	35.41±8.1 2	44.06±4.4 6	41.94±3.0 7	30.86±2.1 3	29.97±2.96	18:4/20:5;16:3/22:6	25.22±3.16	25.67±6.90	25.63±5.3 4	28.65±4.4 2	25.81±0.7 2
«Эукариотические» МГДГ	64.59±8.1 2	55.94±4.4 6	58.06±3.0 7	69.14±2.1 3	70.03±2.96	16:2/22:6	4.08±1.41	5.05±3.08	3.69±1.09	2.98±1.03	2.96±0.92
СХДГ						18:4/22:6	4.18±1.07	3.90±0.80	3.81±0.92	3.41±0.68	3.41±0.60
14:0/14:0 ³	0.19±0.13	0.31±0.15	0.12±0.13	0.15±0.10	0.78±0.33	20:5/22:6	1.88±1.26	2.23±1.42	2.03±1.02	1.56±0.77	0.91±0.71

Продолжение таблицы 2

14:2/16:0	1.90±0.35	2.38±0.76	1.68±0.33	1.32±0.26	1.96±0.72	«Прокариотические» ДГДГ	24.86±3.03	28.54±2.52	27.70±4.03	24.41±4.46	26.77±3.69
14:1/16:0	9.81±1.84	11.76±1.82	7.94±1.92	7.96±1.72	8.22±1.63	«Эукариотические» ДГДГ	75.14±3.03	71.46±2.52	72.30±4.03	75.59±4.46	73.23±3.69
14:0/16:0	47.72±4.07	48.97±4.69	43.78±3.03	51.31±3.18	49.75±0.97						
32:04:00	0.21±0.18	0.24±0.16	0.08±0.10	0.08±0.04	0.31±0.25						
16:0/16:3	1.61±0.51	2.16±0.11	1.25±0.32	1.30±0.29	2.13±0.18						
16:0/16:2	8.87±1.52	8.52±1.11	5.88±1.05	6.70±0.20	7.17±0.57						
16:0/16:0	29.68±4.67	25.65±5.30	39.28±3.27	31.18±4.92	29.68±2.99						
Насыщенные СХДГ	77.59±0.63	74.93±1.30	83.18±2.64	82.64±1.87	80.21±2.32						
Ненасыщенные СХДГ	22.41±0.63	25.07±1.30	16.82±2.64	17.36±1.87	19.79±2.32						

Примечание. ¹ФЛ : *sn*-1алкил/*sn*-2ацил; *sn*-1(2) ацил/ *sn*-2(1) ацил. ²Брутто формула окФС и окФ. ³ МГДГ, ДГДГ, СХДГ: *sn*-1(2) ацил/ *sn*-2(1) ацил.