

## ***Theodoxus syriacus* (Gastropoda: Prosobranchia)'un Nötral Lipit, Fosfolipit ve Total Lipit Yağ Asiti Kompozisyonunun Mevsimsel Değişimi**

İhsan EKİN\*, Mehmet BAŞHAN, Rıdvan ŞEŞEN  
Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü / DİYARBAKIR  
Alınış tarih:02.11.2009, Kabul tarihi:11.03.2010

**Özet:** Diyarbakır Devegeçidi Köprüsü civarından toplanan tatlısu salyangozu *Theodoxus syriacus* (Bourguignat, 1853)'un fosfolipit, nötral lipit ve total vücut lipitlerinin mevsimsel yağ asiti değişimi, bir yıl boyunca araştırıldı. Salyangozun tüm vücut lipitleri, ince tabaka kromatografi ile fraksiyonlandı. Fosfolipit, nötral lipit ve total lipit yağ asitleri gaz kromatografi (GC) ve gaz kromatografi-kütle spektrometresi (GC-MS) metodları ile analiz edildi. Lipit analizlerinde, C16:0, C18:0, C18:1ω9, C18:2ω6 ve C18:3ω3 asitler, diğer asitlere göre daha yüksek oranda saptandı. Fosfolipit, nötral lipit ve total lipitte bazı önemli farklılıklar bulundu. Yağ asitlerinin mevsimsel değişimleri, kısmen sıcaklık ve besin ile bağlantılı olduğu görüldü. Total doymuş yağ asiti (□DYA) oranları (fosfolipitte %47.75, nötral lipitte %45.61 ve total lipitte %41.63) yaz döneminde yüksek oranda bulundu. Total tekli doymamış yağ asiti (□TDYA) oranı, fosfolipitte (%35.05) en çok kış mevsiminde, nötral (%34.83) ve total lipitte (%39.10) ise en çok ilkbahar mevsiminde tespit edildi. Total çoklu doymamış yağ asiti (□ÇDYA) oranları (fosfolipitte %55.89, nötral lipitte %59.99 ve total lipitte %50.66) ise tüm analizlerde sonbahar döneminde oldukça yüksek saptandı. Bu yüksek oran C18:2ω6 asitin, tüm analizlerin sonbahar döneminde çok yüksek oranda (%36.42 - %54.30) tespit edilmesinden kaynaklandı.

**Anahtar kelimeler:** Yağ Asitleri, Fosfolipit, Nötral Lipit, *Theodoxus syriacus*, Tatlısu Salyangozu

### **Seasonal Variation in the Fatty Acid Composition of the Neutral Lipid, Phospholipid and Total Lipids of *Theodoxus syriacus* (Gastropoda: Prosobranchia)**

**Abstract:** Seasonal variation of the fatty acid composition of the neutral lipid, phospholipid and total body lipid of freshwater snail *Theodoxus syriacus* (Bourguignat, 1853) collected from Devegeçidi Bridge vicinity in Diyarbakır, were investigated over the course of the year. Snail's whole body lipids were fractionated by thin layer chromatography. Fatty acid composition of the total lipid, phospholipid and neutral lipid of the snail were analyzed by capillary gas chromatography (GC) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) methods. In the lipid analyses, C16:0, C18:0, C18:1ω9, C18:2ω6 and C18:3ω3 acids percentages were found higher than other fatty acids. Some important differences were found among the percentages of phospholipid, neutral and total lipid. It was observed that seasonal variation of the fatty acids was partly related to temperature and diet. The highest levels of total saturated fatty acids (□SFA) mostly were found in summer season (phospholipid 47.75%, neutral lipid 45.61% and total lipid 41.63%). The highest level of total monounsaturated fatty acids (□MUFA) in the phospholipid fraction was found in winter season (35.05 %); in the neutral (34.83%) and total lipid (39.10%) was found in spring season. In all of the analyses, the highest levels of total polyunsaturated fatty acid (□PUFA) were determined in autumn season (phospholipid 55.89%, neutral lipid 59.99% and total lipid 50.66%). This high percentage is attributed to the high quantity of C18:2ω6 acid (36.42 % - 54.30 %) in autumn season.

**Keywords:** Fatty Acids, Phospholipid, Neutral Lipid, *Theodoxus syriacus*, Freshwater Snail

### **Giriş**

Yumuşakça (Mollusca) şubesi kara, deniz ve tatlısularda yaşayan türlere sahip olup, çeşitlilik bakımından böceklerden sonra ikinci büyük hayvan topluluğunu oluşturmaktadır. Mollusk; Polyplacophora, Gastropoda, Bivalvia ve Cephalopoda olmak üzere dört temel sınıfa ayrılmaktadır (Ekman, 1953). Yumuşakçalar lipit içeriği ve yağ asiti bileşenleri bakımından ilginç bir canlı grubunu oluştururlar (Joseph, 1982; Ackman, 1989). Yüksek oranda ÇDYA (Çoklu Doymamış Yağ Asitleri) ile nadir bulunan bazı yağ asitlerini içerdiklerinden biyokimyacıların ve endüstriyel araştırmacıların özel ilgisini çekmişlerdir (Johns vd., 1980).

Denizde yaşayan yumuşakçaların lipit kompozisyonu ve metabolizması geniş bir şekilde araştırılmasına rağmen, tatlısu yumuşakçaları ile ilgili çok az çalışma yapılmıştır (Hagar ve Dietz, 1986; Dembitsky vd., 1992; 1994; Misra vd., 2002). Tatlısu salyangozlarının mevsimsel yağ asiti dağılımı ile ilgili çalışmalar ise yok denecek kadar azdır.

Yapılan araştırmalar daha çok Prosobranch salyangoz türlerinin yağ asiti dağılımı ile ilgilidir (Dembitsky vd., 1992; Fried vd., 1993; Misra vd., 2002).

Yumuşakçaların yağ asiti kompozisyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda, DYA (Doymuş Yağ Asitleri) lardan C10:0 (kaprik), C12:0 (laurik), C13:0 (tridekanoik), C14:0 (miristik), C15:0 (pentadekanoik), C16:0 (palmitik), C17:0 (margarik), C18:0 (stearik); TDYA (Tekli Doymamış Yağ Asitleri) lardan C16:1ω7 (palmitoleik), C18:1ω9 (oleik), C20:1ω9 (eikosenoik), C22:1ω9 (beherik) ve ÇDYA lardan C18:2ω6 (linoleik), C18:3ω3 (α-linolenik), C20:2ω6 (eikosadienoik), C20:3ω6 (eikosatrienoik) C20:4ω6 (arakidonik), C20:5ω3 (eikosapentaenoik) (EPA) ve C22:2ω6 (dokosadienoik) gibi yağ asitleri sıklıkla tespit edilmektedir (Dembitsky vd., 1992, 1994; Fried vd., 1992, 1993; Go vd., 2002; Pazos vd., 2003; Brazao vd., 2003).

Yumuşakçaların yağ asiti kompozisyonu, sıcaklık, besin, ışık ve tuzluluk gibi dış faktörler ile metabolik ve fizyolojik yapıları olarak bilinen iç faktörler tarafından etkilenebilir (Brazao vd., 2003). Yumuşakçalardan olan Gastropodların (Salyangozlar ve Sümüklü böcekler) yağ asiti dağılımına sıcaklık, tuzluluk ve besin gibi çevresel faktörlerin etkisi ile ilgili bazı çalışmalar yapılmıştır. Araştırmaların çoğu yağ asiti dağılımına besinin etkisi üzerinedir (Dembitsky vd., 1993; 1994). Çalışmaların bazılarında deniz ve tatlısu salyangozlarının yağ asiti içeriğinin farklı olduğuna değinilmiştir. Bu farklılığın, mevsimsel değişimlerden, farklı çevre koşullarından veya coğrafik dağılımlardan ileri geldiği öne sürülmüştür (Go vd., 2002).

*Theodoxus syriacus* Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yaygın dağılım gösteren bir tatlısu salyangoz türüdür. Bu türe, Türkiye'nin diğer bölgelerinde rastlanılmamıştır. Temiz ve serin kaynak sularının ilk çıkış yerlerinde veya kaynağa yakın bölgelerde yaşam sürdürürler. Sudaki taşlar üzerinde bulunan alg ve planktonlar ile beslenen bu canlılar önden solungaçlı (Prosobranch) olup, solungaç solunumu yaparlar. Genellikle boyları 4-10mm civarındadır. Bu tatlısu salyangozları, aynı habitatta yaşayan balıklar ve diğer aquatik hayvanların besinlerinden bir kısmını oluşturmaktadır. Bu çalışma ile elde edilen sonuçlar, *T. syriacus* salyangozlarının yağ asiti içeriğinin mevsimsel olarak ne şekilde dağılım gösterdiği ve besin zincirindeki yağ asiti dağılımının nasıl olabileceği amaçlandı. Oranı yüksek olarak bulunan bazı yağ asitlerinin bu canlılar ile beslenen organizmalara da yüksek oranda geçtiği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, Diyarbakır ilinin Devegeçidi Köprüsü civarındaki kaynak sularından bir yıl boyunca (2006-2007) her mevsim toplanan tatlısu salyangozu *T. syriacus*'un total vücut lipidleri ile fosfolipit ve nötral lipid fraksiyonlarının mevsimsel yağ asiti içeriği araştırıldı. Yağ asiti analizlerinde, ince tabaka kromatografisi, gaz kromatografisi (GC) ile gaz kromatografisi-kütle spektrometre (GC-MS) kullanıldı.

## Materyal ve Metot

### Örneklerin Alınması

*T. syriacus* tatlısu salyangozları, 2006 - 2007 yıllarının sonbahar (Kasım), kış (Şubat), ilkbahar (Nisan) ve yaz (Temmuz) mevsimlerinde Diyarbakır'ın kuzeyine doğru 20km uzaklıkta olan Ergani yolu üzerindeki Devegeçidi Köprüsü (Rakım: 673m, Koordinat: N 38° 16.8' / E 39° 46.2') civarındaki kaynak sularından toplandı. Suyun derinliği çıkış noktasında ortalama 60cm, akıntının olduğu yerlerde ise ortalama 25cm olarak ölçüldü. Kaynak suyunun sıcaklığı Kasım'da 10 °C, Şubat'ta 4 °C, Nisan'da 14 °C ve Temmuz'da 18 °C olarak ölçüldü. Her mevsimsel analiz için yaklaşık 5gram salyangoz kullanıldı. Örnekler (salyangozlar) ve besinini oluşturan algler bir miktar doğal yaşam alanlarındaki su ile birlikte laboratuara getirildi. Çok küçük olduklarından dolayı canlı tüm olarak, içinde kloroform-metanol (1:2) karışımı bulunan farklı kaplara konulup gruplara ayrıldı ve analiz edilinceye kadar -80 °C'de derin dondurucuda saklandı.

### Lipit Ekstraksiyonu

Salyangozun total lipid, fosfolipit ve nötral lipid yağ asiti verileri 3 tekrar halinde yapılarak elde edildi. Her yağ asiti analizi için ortalama 5gr numune kullanıldı. Örnekler, kloroform ve metanol karışımında (1:2), homojenizatör aleti ile 5 dakika boyunca homojenize edildi (Bligh ve Dyer, 1959). ÇDYA ların otooksidasyonunu önlemek için ekstraksiyon sistemine, kloroformda % 2 oranında hazırlanan butil hidroksitoluen (BHT) maddesinden 50 µl ilave edildi. Çözücü azot altında buharlaştırıldıktan sonra, salyangozların total lipid ekstraktları, silika-gel sürülmüş ince tabaka kromatografisi pleytlerine (20x20cm) tatbik edildi. Total lipidler, petrol eteri-dietileter-asetik asit (80:20:1) karışımında yürütüldü. Pleytler, havada kurutulduktan sonra, 2'7'dikloroflorosein püskürtülerek lipid fraksiyonları UV altında görünür hale getirildi. Fosfolipit ve nötral lipidlere ait bantlar kazılarak reaksiyon tüplerine aktarıldı. Her fraksiyona ayrı ayrı asitli metanol katılarak 90 dakika süre ile geri soğutucu altında 85 °C de ısıtıldı. Böylece yağ asitlerinin, yağ asiti metil esterlerine dönüşmesi sağlandı. Çözelti soğuduktan sonra metil esterleri hekzan kullanılarak ekstrakte edildi (Stanley-Samuelson ve Dadd, 1983).

### Gaz Kromatografisi (GC) Koşulları

Metil esterlerine dönüştürülen yağ asiti analizleri, HP 6890 model Gaz Kromatografisi cihazında, alev iyonizasyon dedektörü (FID) ve DB-23 (Bonded % 50 cyanopropyl) (J & W Scientific, Folsom, CA, USA) kapiler kolon (60m x 0.25mm i.d x 0.250 µm film kalınlığı) kullanılarak yapılmıştır. Dedektör sıcaklığı, 280 °C; enjektör sıcaklığı, 270 °C; enjeksiyon: Split - model 1:20. Gaz akış hızları, taşıyıcı gaz olarak helyum 2.8 ml / dakika (sabit akış modeli); hidrojen, 30 ml / dakika; kuru hava, 300 ml / dakika; kolon (fırın) sıcaklığı: 130 °C de, bekleme süresi 1 dakika; 170 °C ye 6.5 °C / dakika; 215 °C ye 2.75 °C / dakika, bekleme süresi 12 dakika; 230 °C ye 40 °C / dakika, bekleme süresi 3 dakika; toplam analiz süresi: 38.8 dakika. Örnek, alete 1 mikrolitre enjekte edilmiştir. Yağ asitlerinin teşhisinde, standart olarak yağ asitlerinin metil esterleri karışımı (Sigma-Aldrich Chemicals) kullanılmıştır. Yağ asitleri metil esterlerinin kromatogramları ve toplam yağ asitleri miktarları bilgisayarda HP 3365 ChemStation bilgisayar programı ile elde edilmiştir. Analiz edilen örneklerin kromatogramındaki pikler, standarttaki bütün yağ asitlerinin metil esterlerinin alıkonma zamanları ile karşılaştırılarak teşhis edilmiştir. Sonuçlar kalitatif değer olarak % yağ asiti üzerinden verilmiştir.

### Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) koşulları

Örnekler, GC-MS cihazına (HP 5890-E serileri GC-Sistem, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA) sırayla enjekte edildi. Analizlerde Innowax kolon (30m x 0.25mm i.d., 0.25µm film kalınlık) kullanıldı. Kolon başlangıç sıcaklığı 150 °C, son sıcaklık 230 °C, ramp 2 °C / dakika., dedektör bloğu sıcaklığı 300 °C ve enjektör bloğu sıcaklığı ise 250 °C olarak ayarlandı. Enjeksiyon splitli olarak (1:50) 1µl uygulandı. Kütle spektrometresi elektron etki iyonizasyonu modunda (70 eV) çalıştırıldı. Yağ asiti metil esterleri Wiley 275 and Nist 98 veri bankalarıyla karşılaştırılarak tanımlandı. Örneklerdeki tek

karbonlu ve 20 karbonlu ÇDYA ların doğruluğu GC-MS cihazı ile aydınlatıldı. GC-MS analizleri Tübitak Ankara Test ve Analiz Laboratuvarında (ATAL) yapılmıştır.

### Verilerin değerlendirilmesi

İstatistiksel analizler SPSS (12.0) programı ile yapıldı. Salyangozların total, fosfolipit ve nötral lipit fraksiyonlarından elde edilen yağ asiti yüzdelерinin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulandıktan sonra, farklılıklar TUKEY HSD testi ile belirlendi. Sonuçlar ortalama  $\pm$  Standart Sapma (S.S.) olarak gösterildi. Anlamlılık derecesi,  $p < 0.05$  kabul edildi.

## Sonuçlar

*Fosfolipit yağ asiti içeriği:* *T. syriacus*'un fosfolipit fraksiyonunda, 8 DYA, 3 TDYA ve 8 ÇDYA olmak üzere toplam 19 çeşit yağ asiti tespit edildi. Fosfolipitteki ΣDYA oranları, yaz döneminde %47.75, ilkbaharda %37.32, kış döneminde %25.28 ve sonbaharda %23.59 olarak saptandı. DYA ların toplam yüzdelерinin sıcak mevsimlerde arttığı görüldü. C16:0 ve C18:0 asitler yüzde dağılımda en yüksek oranda tespit edildiler. Bütün dönemlerde C16:0 asit, fosfolipit fraksiyonunda saptanan ΣDYA yüzdelерinin yarısından fazlasını oluşturdu. Örneğin, yaz dönemindeki toplam %47.75 lik oranın, %33.76 sını bu bileşen oluşturdu. ΣTDYA yüzdeleri, kış mevsiminde %35.05, ilkbaharda %27.43, sonbaharda %20.30 ve yaz döneminde %14.97 olarak tespit edildi. Tüm mevsimlerde C18:1ω9 asit, TDYA ların yaklaşık üçte ikisini oluşturmaktaydı. Kış mevsiminde %10.25, ilkbaharda %7.59 oranında tespit edilen C16:1ω7 asit, yaz (%2.59) ve sonbaharda (%2.33) daha düşük oranda tespit edildi. ΣÇDYA yüzdeleri, sonbaharda %55.89, kışın %39.08, yazın %37.24 ve ilkbahar döneminde %35.03 olarak saptandı. ΣÇDYA oranı, sonbahar döneminde oldukça yüksekti. Bu durum C18:2ω6 asitin yüksek oranından (%40.05) kaynaklanmaktaydı. C18:3ω3 asitin en yüksek oranı %13.50 ile kışın bulundu. Yaz mevsiminde, C20:3ω6 asit, %4.02 gibi bir değer ile diğer dönemlere göre daha yüksekti. C20:4ω6 ve C20:5ω3 asitlerin oranlarında sonbahardan yaza doğru artış olduğu tespit edildi. Ayrıca, C22:2ω6 ve C22:6ω3 gibi asitler, bazı dönemlerde düşük oranlarda da olsa tespit edildi (Tablo 1).

*Nötral lipit yağ asiti içeriği:* *T. syriacus*'un nötral lipit fraksiyonlarında ΣDYA oranları, kışın %47.11, yazın %45.61, ilkbaharda %31.17 ve sonbahar döneminde %21.53 olarak saptandı. DYA lar arasında C16:0 asit, yaz mevsiminde %36.80 ile en yüksek; sonbahar mevsiminde ise %14.49 ile en düşük bulundu. C18:0 asit, %10.70, C14:0 asit ise %4.70 ile en çok kış döneminde tespit edildiler. ΣTDYA oranları, ilkbaharda %39.10, yazın %28.86, kışın %24.83 ve sonbahar döneminde %18.52 olarak bulundu. C18:1ω9 asit %29.72 ile en çok ilkbahar döneminde, C16:1ω7 asit ise %10.20 gibi bir oranla en çok yaz döneminde saptandı. ΣÇDYA oranları, sonbaharda %59.99, ilkbaharda %29.66, kışın %28.44 ve yazın %26.03 şeklindeydi. C18:2ω6 asit sonbahar döneminde oldukça yüksek oranda (%54.30) saptandı. C18:3ω3 asit ise en çok kış döneminde, en az ise sonbahar döneminde tespit edildi. C20:4ω6 asit oranında, kış ve yaz mevsimlerinde artış görülürken, sonbahar ve ilkbahar mevsimlerinde ise azalış olduğu görüldü. C20:5ω3 asit oranında ise sonbahardan yaza doğru düzenli bir artış vardı (Tablo 2).

*Total lipit yağ asiti içeriği:* *T. syriacus*'un total lipit analizinde, sonbaharda %29.36 olan ΣDYA yüzdesi, kışın %32.61, ilkbaharda %39.91 ve yaz döneminde ise %41.63 olarak bulundu. Diğer analizlerde olduğu gibi C16:0 asit yüzde dağılımda major bileşendi. Bu bileşen, sonbahardan yaza doğru %18.22, %20.02, %25.92, %28.05 şeklinde bir artış gösterdi. C18:0 asit, kış döneminde %10.09 oranında iken, diğer dönemlerdeki oranı %4.93 ile %6.12 arasındaydı. ΣTDYA yüzdesi kışın %34.65, ilkbaharda %34.83, sonbaharda %19.10, yaz döneminde ise %30.22 olarak tespit edildi. C18:1ω9 asit kış mevsiminde en fazla (%24.05), sonbaharda ise en az (%14.06) oranda saptandı. ΣÇDYA oranı, sonbaharda %50.66, kışta %33.83, yazda %28.16 ve ilkbahar döneminde %25.36 olarak bulundu. ÇDYA lar arasında major bileşen olarak tespit edilen C18:2ω6 asitin oranı, sonbahardan yaza doğru %36.42 den %6.77 lere kadar düştü. Bu bileşen, yaz ve ilkbahar dönemlerine göre, sonbahar ve kış dönemlerinde oldukça yüksek oranda tespit edildi. Diğer yandan, C18:3ω3 asit, kış mevsimi dışında diğer dönemlerde birbirine yakın oranda bulundu. Yazın yüksek oranda saptanan C20:4ω6 ve C20:5ω3 asitler, kış döneminde oldukça düşük miktarda bulundular. C22:2ω6 asit sadece yaz döneminde, C22:6ω3 asit ise sadece ilkbaharda saptanabildi (Tablo 3).

**Tablo 1.** *Theodoxus syriacus*'un fosfolipit fraksiyonundaki yağ asitlerinin mevsimsel yüzde dağılımı

Yağ Asitleri	Sonbahar (Kasım) (ortalama* ± S.S.)**	Kış (Şubat) (ortalama* ± S.S.)**	İlkbahar (Nisan) (ortalama* ± S.S.)**	Yaz (Temmuz) (ortalama* ± S.S.)**
C10:0	0.16 ± 0.01	-	-	-
C12:0	0.41 ± 0.03a	0.32 ± 0.02a	0.30 ± 0.02a	0.40 ± 0.03a
C13:0	0.40 ± 0.02a	1.04 ± 0.12a	1.40 ± 0.11a	0.50 ± 0.04b
C14:0	2.10 ± 0.18a	1.45 ± 0.14b	2.59 ± 0.19a	0.57 ± 0.04c
C15:0	0.65 ± 0.06a	0.64 ± 0.08a	0.82 ± 0.07a	0.50 ± 0.04a
C16:0	13.79 ± 1.08a	15.23 ± 1.23a	23.57 ± 1.39b	33.76 ± 1.65c
C17:0	0.68 ± 0.07a	0.64 ± 0.05a	0.88 ± 0.72a	0.78 ± 0.06a
C18:0	5.40 ± 0.48a	5.96 ± 0.49a	7.76 ± 0.81b	11.24 ± 0.99c
<b>ΣDYA</b>	<b>23.59 ± 1.38a</b>	<b>25.28 ± 1.42a</b>	<b>37.32 ± 1.68b</b>	<b>47.75 ± 2.04c</b>
C16:1ω7	2.33 ± 0.24a	10.25 ± 0.95b	7.59 ± 0.08c	2.59 ± 0.15a
C18:1ω9	13.28 ± 1.08a	22.10 ± 1.41b	19.10 ± 1.31c	12.06 ± 1.14a
C20:1ω9	4.69 ± 0.47a	2.70 ± 0.21b	0.74 ± 0.06c	0.32 ± 0.01c
<b>ΣTDYA</b>	<b>20.30 ± 1.35a</b>	<b>35.05 ± 1.57b</b>	<b>27.43 ± 1.51c</b>	<b>14.97 ± 1.27d</b>
C18:2ω6	40.05 ± 1.62a	6.36 ± 0.72b	11.01 ± 0.99c	6.03 ± 0.63b
C18:3ω3	5.63 ± 0.10a	13.50 ± 1.09b	3.37 ± 0.31c	5.38 ± 0.50d
C20:2ω6	1.80 ± 0.09a	3.50 ± 0.27b	2.25 ± 0.18a	1.00 ± 0.10c
C20:3ω6	0.19 ± 0.01a	0.20 ± 0.01a	0.32 ± 0.02a	4.02 ± 0.37b
C20:4ω6	4.37 ± 0.39a	5.80 ± 0.52b	6.88 ± 0.52b	11.79 ± 1.18c
C20:5ω3	2.73 ± 0.19a	4.37 ± 0.39b	8.62 ± 0.76c	9.02 ± 1.14d
C22:2ω6	-	2.50 ± 0.19a	1.30 ± 0.11b	-
C22:6ω3	1.12 ± 0.11a	2.85 ± 0.21b	1.28 ± 0.10a	-
<b>ΣÇDYA</b>	<b>55.89 ± 2.16a</b>	<b>39.08 ± 1.75b</b>	<b>35.03 ± 1.59c</b>	<b>37.24 ± 1.71b</b>

\*\*Aynı satırda aynı harfle belirtilen değerler birbirinden farklı değildir. P < 0.05

\* Her veri üç tekrarın ortalamasıdır. Her tekrarda gaz kromatografisiyle 3 enjeksiyon yapılmıştır.

**DYA:** Doymuş Yağ Asitleri, **TDYA:** Tekli Doymamış Yağ Asitleri, **ÇDYA:** Çoklu Doymamış Yağ Asitleri

**Tablo 2.** *Theodoxus syriacus*'un nötral lipit fraksiyonundaki yağ asitlerinin mevsimsel yüzde dağılımı

Yağ Asitleri	Sonbahar (Kasım) (ortalama* ± S.S.)**	Kış (Şubat) (ortalama* ± S.S.)**	İlkbahar (Nisan) (ortalama* ± S.S.)**	Yaz (Temmuz) (ortalama* ± S.S.)**
C10:0	0.22 ± 0.03a	1.15 ± 0.12b	-	-
C12:0	0.31 ± 0.04a	2.68 ± 0.24b	0.36 ± 0.08a	0.35 ± 0.03a
C13:0	0.92 ± 0.08a	3.16 ± 0.30b	0.18 ± 0.04c	0.20 ± 0.04c
C14:0	1.39 ± 0.13a	4.70 ± 0.48b	2.20 ± 0.26c	1.55 ± 0.14a
C15:0	0.44 ± 0.05a	0.46 ± 0.04a	0.42 ± 0.06a	1.01 ± 0.12b
C16:0	14.49 ± 1.02a	24.06 ± 1.38b	23.51 ± 1.33b	36.80 ± 1.56c
C17:0	0.23 ± 0.15a	0.20 ± 0.15a	0.37 ± 0.16a	0.30 ± 0.14a
C18:0	3.53 ± 0.31a	10.70 ± 1.04b	4.10 ± 0.42a	5.40 ± 0.61c
<b>ΣDYA</b>	<b>21.53 ± 1.36a</b>	<b>47.11 ± 2.12b</b>	<b>31.17 ± 1.48c</b>	<b>45.61 ± 2.05b</b>
C16:1ω7	2.50 ± 0.22a	10.09 ± 0.95b	5.69 ± 0.60c	10.20 ± 0.95b
C18:1ω9	15.02 ± 1.08a	14.53 ± 1.05a	29.72 ± 1.37b	17.59 ± 1.25c
C20:1ω9	0.20 ± 0.03a	0.21 ± 0.03a	3.69 ± 0.36b	1.07 ± 0.10c
C22:1ω9	0.80 ± 0.07	-	-	-
<b>ΣTDYA</b>	<b>18.52 ± 1.25a</b>	<b>24.83 ± 1.36b</b>	<b>39.10 ± 1.64c</b>	<b>28.86 ± 1.36d</b>
C18:2ω6	54.30 ± 2.24a	9.20 ± 0.87b	17.86 ± 1.27c	5.79 ± 0.52d
C18:3ω3	2.21 ± 0.19a	10.03 ± 0.98b	6.67 ± 0.59c	8.60 ± 0.78b
C20:2ω6	0.97 ± 0.09a	0.27 ± 0.04b	0.66 ± 0.07c	0.60 ± 0.06c
C20:3ω6	0.10 ± 0.02	-	-	-
C20:4ω6	0.92 ± 0.08a	6.84 ± 0.59b	1.31 ± 0.12c	5.03 ± 0.49b
C20:5ω3	0.97 ± 0.08a	2.10 ± 0.18b	3.16 ± 0.34c	6.01 ± 0.63d
C22:6ω3	0.52 ± 0.04	-	-	-
<b>ΣÇDYA</b>	<b>59.99 ± 2.35a</b>	<b>28.44 ± 1.37b</b>	<b>29.66 ± 1.38b</b>	<b>26.03 ± 1.34c</b>

\*\*Aynı satırda aynı harfle belirtilen değerler birbirinden farklı değildir. P &lt; 0.05

\* Her veri üç tekrarın ortalamasıdır. Her tekrarda gaz kromatografisiyle 3 enjeksiyon yapılmıştır.

**DYA:** Doymuş Yağ Asitleri, **TDYA:** Tekli Doymamış Yağ Asitleri, **ÇDYA:** Çoklu Doymamış Yağ Asitleri

**Tablo 3.** *Theodoxus syriacus*'un total lipit analizindeki yağ asitlerinin mevsimsel yüzde dağılımı

Yağ Asitleri	Sonbahar (Kasım) (ortalama* ± S.S.)**	Kış (Şubat) (ortalama* ± S.S.)**	İlkbahar (Nisan) (ortalama* ± S.S.)**	Yaz (Temmuz) (ortalama* ± S.S.)**
C10:0	0.28 ± 0.01	-	-	-
C12:0	0.10 ± 0.01a	0.25 ± 0.01a	-	1.50 ± 0.11b
C13:0	0.15 ± 0.01a	0.50 ± 0.02b	0.84 ± 0.07b	-
C14:0	3.97 ± 0.37a	1.25 ± 0.10b	4.77 ± 0.36a	4.38 ± 0.41a
C15:0	0.75 ± 0.06a	0.75 ± 0.06a	1.19 ± 0.12b	1.42 ± 0.10b
C16:0	18.22 ± 1.31a	20.02 ± 1.34b	25.92 ± 1.34b	28.05 ± 1.37c
C17:0	0.96 ± 0.08a	0.75 ± 0.06a	1.07 ± 0.09b	1.06 ± 0.08b
C18:0	4.93 ± 0.42a	10.09 ± 1.04b	6.12 ± 0.55c	5.22 ± 0.50a
<b>ΣDYA</b>	<b>29.36 ± 1.38a</b>	<b>32.61 ± 1.42b</b>	<b>39.91 ± 1.52c</b>	<b>41.63 ± 1.68c</b>
C16:1ω7	4.02 ± 0.38a	8.55 ± 0.82b	9.11 ± 0.88b	8.12 ± 0.75b
C18:1ω9	14.06 ± 1.21a	24.05 ± 1.37b	20.05 ± 1.35c	18.15 ± 1.29d
C20:1ω9	1.02 ± 0.12a	2.05 ± 0.18b	5.67 ± 0.52c	3.95 ± 0.29d
<b>ΣTDYA</b>	<b>19.10 ± 1.26a</b>	<b>34.65 ± 1.44b</b>	<b>34.83 ± 1.44b</b>	<b>30.22 ± 1.43c</b>
C18:2ω6	36.42 ± 1.52a	20.03 ± 1.32b	8.63 ± 0.76c	6.77 ± 0.54d
C18:3ω3	4.03 ± 0.37a	7.98 ± 0.68b	4.95 ± 0.43a	5.36 ± 0.59a
C20:4ω6	5.84 ± 0.57a	2.12 ± 0.10b	3.92 ± 0.37c	7.11 ± 0.69d
C20:5ω3	4.37 ± 0.38a	3.70 ± 0.35a	6.81 ± 0.63b	7.80 ± 0.71b
C22:2ω6	-	-	-	1.12 ± 0.07
C22:6ω3	-	-	1.05 ± 0.07a	-
<b>ΣÇDYA</b>	<b>50.66 ± 2.24a</b>	<b>33.83 ± 1.48b</b>	<b>25.36 ± 1.37c</b>	<b>28.16 ± 1.39d</b>

\*\*Aynı satırda aynı harfle belirtilen değerler birbirinden farklı değildir. P < 0.05

\* Her veri üç tekrarın ortalamasıdır. Her tekrarda gaz kromatografisiyle 3 enjeksiyon yapılmıştır.

**DYA:** Doymuş Yağ Asitleri, **TDYA:** Tekli Doymamış Yağ Asitleri, **ÇDYA:** Çoklu Doymamış Yağ Asitleri

## Tartışma

*T. syriacus*'un nötral lipid, fosfolipit ve total lipidlerinin mevsimsel yağ asiti analizlerinde, DYA lardan C10:0, C12:0, C13:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C18:0; TDYA lardan C16:1 $\omega$ 7, C18:1 $\omega$ 9, C20:2 $\omega$ 9, C22:1 $\omega$ 9; ÇDYA lardan C18:2 $\omega$ 6, C18:3 $\omega$ 3, C20:2 $\omega$ 6, C20:3 $\omega$ 6, C20:4 $\omega$ 6, C20:5 $\omega$ 3, C22:2 $\omega$ 6, C22:6 $\omega$ 3 gibi yağ asitleri tespit edildi. Bu bileşenler hem tatlısu hemde denizde yaşayan birçok yumuşakça türü için geneldir (Pollero vd., 1983; Dembitsky vd., 1994; Fried vd., 1993; Go vd., 2002; Pazos vd., 2003; Brazao vd., 2003).

Son yıllarda, çoklu doymamış yağ asitlerinin tıbbi önemi artmaktadır. Örneğin, C18:2 $\omega$ 6, C18:3 $\omega$ 3 ve C20:4 $\omega$ 6 gibi yağ asiti eksikliği memelilerde deri hastalıkları, büyümede yavaşlama, böbrek fonksiyon bozukluğu ile üreme sisteminde bozukluklara sebep olmaktadır (Alimova vd., 1975). Tıbbi hipotezler, birçok hastalığın ÇDYA lar ile bağlantılı olduğunu göstermiştir (Wennmalm, 1977; Rudin, 1982). Yumuşakçalardan olan tatlısu salyangozlarının mevsimsel yağ asiti dağılımı ile ilgili çok az çalışma yapılmıştır. Yumuşakçaların mevsimsel yağ asiti dağılımı ile ilgili yapılan araştırmaların çoğu ticari değeri olan deniz midyeleri ile ilgilidir (De Moreno vd., 1980; Abad vd., 1995). Bundan dolayı tatlısu salyangozlarının mevsimsel yağ asiti analizi önem kazanmaktadır.

Besin ve sıcaklık salyangozların yağ asiti kompozisyonuna önemli derecede etki etmektedir (Logue vd., 2000). Sucul salyangozların besinini oluşturan fitoplankton ve zooplanktonlar, havaların ısınmaya başladığı ilkbahar ile havaların soğumaya başladığı sonbaharın ilk aylarında maksimum seviyeye ulaşır. Kış döneminde ise su, güneş ve hava sıcaklığının uygun olmayışından dolayı bu mikroorganizmaların miktarı azalır (Pazos vd., 1996). Salyangozlar, pasif oldukları bu soğuk dönemlerde depo lipidlerini enerji için kullanırlar. Bu durumdan kaynaklandığını düşünerek; yaptığımız analizlerde bazı yağ asiti miktarlarının bazı dönemlerde organizmanın fizyolojik ve metabolik ihtiyacına ve aldığı besin içeriğine göre azalıp arttığı görüldü. Örneğin *T. syriacus*'un total lipidteki ΣDYA oranı sonbahar döneminde %29.36, kış döneminde %32.41, ilkbahar döneminde %39.3, yaz döneminde ise %41.63 olarak saptandı. Kış dönemindeki oranın, sonbahar dönemindeki orandan fazla oluşu, kış döneminde %10.09 olarak bulunan C18:0 asitten kaynaklandı. Bu durumun canlının fizyolojik ve metabolik ihtiyacından ileri geldiğini düşünmekteyiz. Genel anlamda bakıldığında ilkbahar ve yaz dönemlerinde ΣDYA oranı sonbahar ve kış mevsimlerinden önemli oranlarda fazla bulundu. Özellikle C16:0 asitin diğer mevsimlere göre, kış ve sonbahar mevsiminde salyangozun fizyolojik ihtiyaçlarından dolayı daha fazla tüketildiği ve bu yağ asitinin azalışından dolayı ΣDYA oranının azaldığı düşünülmektedir.

Sonbahar döneminde, salyangozun her üç yağ asiti analizinde de C18:2 $\omega$ 6 asitin yüksek miktarından (fosfolipit %40.05, nötral lipid %54.30, total lipid %36.42) dolayı ΣÇDYA oranları arttı. Bu bulgu, salyangozların

soğuk ortama karşı gösterdiği fizyolojik adaptasyondan kaynaklandığı düşüncesini desteklemektedir. Daha önceki çalışmalarda da düşük sıcaklığa adaptasyon sonucunda bazı salyangozlarda bazı ÇDYA ların arttığı ileri sürülmüştür (Sargent, 1976; Holland, 1978). Ayrıca çalışmamızda salyangozun yağ asiti kompozisyonunun besinden etkilenip etkilenmediğini anlayabilmek için canlının besin olarak tükettiği yosunların yağ asiti analizi de yapıldı. *T. syriacus*'un besininin mevsimsel yağ asiti analizlerinde de sonbahar (%30.94) ve kış (%40.28) dönemlerinde C18:2 $\omega$ 6 asit oranı oldukça yüksek bulundu (Besin analizi verilerine bu çalışmada yer verilmedi). Tespit edilen bu yüksek oran salyangozun bu yağ asitini besinden de alabileceğini göstermektedir.

*T. syriacus*'ta C16:0, C18:1 $\omega$ 9, C18:2 $\omega$ 6 asitler yüzde dağılımda yıl boyunca en yüksek oranda tespit edildiler. Bu bileşenler birçok çalışmada da major yağ asitleri olarak saptanmıştır (Pollero vd., 1983; Misra vd., 1985; Pazos vd., 2003). Her üç analiz türünde de C16:0 asit, yıl boyunca yaz döneminde en yüksek oranda saptandı. C18:1 $\omega$ 9 asit, fosfolipit fraksiyonunda en çok kış döneminde (%22.10); nötral lipid fraksiyonunda en çok ilkbahar döneminde (%29.72); total lipid analizinde de en çok kış döneminde (%24.05) tespit edildi. Fosfolipit fraksiyonunda C18:2 $\omega$ 6 asitin sonbahar dönemindeki oranı (%40.05) ile nötral lipitin sonbahar dönemindeki oranı (%54.30); kış, ilkbahar ve yaz dönemlerinde saptanan oranların toplamından daha fazladı. Bu bulgular, salyangozun kantitatif yağ asiti içeriğinin farklı olabileceğini göstermektedir. Salyangozlar, diğer omurgasız ve omurgalı hayvanlarda olduğu gibi C18:1 $\omega$ 9 asite kadar olan yağ asitlerini kendileri sentezlemekte, iki çift bağ içeren C18:2 $\omega$ 6 asit ile üç çift bağ içeren C18:3 $\omega$ 3 asit gibi temel yağ asitlerini dışarıdan besinle almaktadırlar. Besinle alınan bu temel bileşenlerden de C20:3 $\omega$ 6, C20:4 $\omega$ 6 ve C20:5 $\omega$ 3 asitleri sentezlemektedirler.

Eikosanoitlerden olan prostaglandinler; tatlısu salyangozlarında yumurta oluşumunu uyarma, midyelerde sodyumun vücut içine alınması, deniz yıldızında oosit olgunlaşması, böceklerde üreme ve nodulasyon, süngerlerde hücre agregasyonu gibi çok önemli fonksiyonlar üstlenmektedir (Stanley ve Howard, 1998). *T. syriacus*'ta eikosanoitlerin öncül maddesi olan C20:4 $\omega$ 6 ve C20:5 $\omega$ 3 asitler, fosfolipit (%11.79 - %9.02), total lipid (%7.11 - %7.80) ve nötral lipidte (%5.03 - %6.01) en çok yaz döneminde saptandı. Daha önceki çalışmalarda, C20:5 $\omega$ 3 asitin salyangozlara diyatomlar tarafından sağlandığı belirtilmiştir (De Moreno vd., 1980; Kharlamenko vd., 1995). Çalışmamızdaki salyangozların besininin büyük bir kısmını diyatomlar ile mavi ve yeşil suyosunları oluşturmaktadır. *T. syriacus* besininin tür teşhisinde çoğunlukla; Bacillariophyta (Diatomeler) şubesine ait *Cymbella*, *Gyrosigma Navicula*, *Melosira*, *Amphora*, *Gomphonema*, *Cocconeis*, *Achnanthes*, *Cyclotella* cinsleri; Chlorophyta (Yeşil suyosunları) şubesine ait *Stigeoclonium* cinsi ve Cyanophyta (Mavi suyosunları) şubesine ait *Oscillatoria* cinsi algelere rastlandı. Salyangozdaki C20:5 $\omega$ 3 yağ asitinin önemli bir kısmının besinden geldiği kanısındayız. Salyangozların yağ asiti dağılımına sadece mevsimsel farklılıklar değil aynı zamanda besin de etki edebilmektedir.

Bir diğer ÇDYA çeşidi de NMID (non- methylene-interrupted dienoic) yağ asitleridir. Birçok deniz (Zhukova, 1991; Abad vd., 1995; Pazos vd., 2003) ve bazı tatlısu yumuşakçalarında (Pollero vd., 1983; Dembitsky vd., 1993; Fried vd., 1993) bu bileşenler tespit edilmiştir. Tatlısu salyangozlarında nadir bulunan bu bileşenlere, *T. syriacus*'un yağ asiti analizlerinde rastlanmadı. Bunun nedeni; türlerin yaşama alanları, sentezleme yeteneği, besinin farklılığı olarak belirtilebilir.

## Teşekkür

Bu çalışma, Dicle Üniversitesi Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenen DÜAPK-04-FF-41 nolu projenin bir kısmını oluşturmaktadır. Projeyi destekleyen ilgililere çok teşekkür ederiz.

## Kaynaklar

Abad, M., Ruiz, C., Martinez, D., Mosquera, G., Sanchez, J.L. 1995. Seasonal Variation of Lipid Classes and Fatty Acids in Flat Oyster *Ostrea Edulis* From San Cibrían (Galicia, SPAIN). Comp. Biochem. Physiol., 110 C (2), 109-118.

Ackman, R.G. 1989. Fats and Oils, Pp. 103-137, in Ackman, R.G. (editor), Fatty Acids in Marine Biogenic Lipids. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Alimova, E.K., Astvatzatur'an, A.T., Zharov, L.B. 1975. Medicine , Pp. 280, in Levachev, M.M. (editor), Lipids and fatty Acids in Normal and Some Pathological States. Meditsina, Moscow.

Bligh, E.G., Dyer, W.J.A. 1959. A Rapid method of total Lipid Extraction and Purification. Can. J. Biochem. Physiol., 37, 911-917.

Brazao, S., Morais, S., Boaventura, D., Re, P., Narciso, L., Hawkins, S.J. 2003. Spatial and Temporal Variation of the Fatty Acid Composition of *Patella* Spp. (Gastropoda: Prosobranchia) Soft Bodies and Gonads. Comp. Biochem. Physiol., 136 B, 425-441.

De Moreno, J.E.A., Pollero, R.J., Moreno, V.J., Brenner, R.R. 1980. Lipids and Fatty Acids of the Mussel (*Mytilus platensis* d'Orbigny) From South Atlantic waters. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 263-276.

Dembitsky, V.M., Kashin, A.G., Stefanow, K. 1992. Comparative Investigation of Phospholipids and Fatty Acids of Freshwater Molluscs From Volga River Basin. Comp. Biochem. Physiol., 102B (1), 193-198.

Dembitsky, V.M., Rezanka, T., Kashin, A.G. 1993. Fatty Acid and Phospholipids Composition of Freshwater Molluscs *Anadonta piscinalis* and *Limnaea fragilis* From the River Volga. Comp. Biochem. Physiol., 105B, 3(4), 597-601.

Dembitsky, V.M., Rezanka, T., Kashin, A.G. 1994. Comparative Study of the Endemic Freshwater Fauna of Lake Baikal-IV. Phospholipids and Fatty Acid Composition of Two Gastropod Molluscs of the Genus *Valvata*. Comp. Biochem. Physiol., 107B, 325-330.

Ekman, S. 1953. Zoogeography of the Sea. Plenum Press, London, 417 pp.

Fried, B., Rao, S.K., Sherma, J. 1992. Fatty Acid Composition of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae) Fed Hen's egg Yolk Versus Leaf Lettuce. Comp. Biochem. Physiol., 101A, 351-352.

Fried, B., Rao, K.S., Sherma, J., Huffmani, J.E. 1993. Fatty Acid Composition of *Goniobasis virginica*, *Physa* sp. and *Viviparus malleatus* (Mollusca: Gastropoda) From Lake Musconetcong, New Jersey. Biochem. Syst. and Ecol., 21(8), 809-812.

Go, J.V., Rezanka, T., Srebnik, M., Dembitsky, V.M. 2002. Variability of Fatty Acid Component of Marine and Freshwater Gastropod Species From the Littoral Zone of the Red Sea, Mediterranean Sea and Sea of Galilee. Biochem. Syst. and Ecol., 30, 819-835.

Hagar, A.F., Dietz, T.H. 1986. Seasonal Changes in the Lipid Composition of Gill Tissue From the Freshwater Mussel *Carunculina Texasensis*. Physiol. Zool., 59 (4), 419-428.

Holland, D.L. 1978. Lipid Reserve and Energy Metabolism in the Larvae of Benthic Marine Invertebrates. Adv. Mar. Biol., 14, 85-123.

Johns, R.B., Nichols, P.D., Perry, G.J. 1980. Fatty Acid Components of Nine Species of Molluscs of the littoral Zone From Australian Waters. Comp. Biochem. Physiol., 65B, 207-214.

Joseph, J.D. 1982. Lipid composition of Marine and Estuarine Invertebrates. Part II: Mollusca. Prog. Lipid Res., 21, 109-153.

Kharlamenko, V.I., Zhukova, N.V., Khotimchenko, S.V., Svetashev, V.I., Kamenev, G.M. 1995. Fatty Acids As Markers of Food Sources in A Shallow Water Hydrothermal Ecosystem (Kraternaya Bight, Yankich Island, Kurile Islands). Mar. Ecol. Prog. Ser., 120, 231-241.

Logue, J.A., Howell, B.R., Bell, J.G., Cossins, A.R. 2000. Diatery n-3 long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids Deprivation, Tissue Lipid Composition, Ex Vivo Prostaglandin Production and Stress Tolerance In Juvenile (*Solea solea* L.). Lipids, 35, 745-755.



- Misra, K.K., Shkrob, I., Rakshit, S., Dembitsky, V.M. 2002. Variability in Fatty Acids and Fatty Aldehydes in Different Organs of Two Prosobranch Gastropod Molluscs. *Biochem. Syst. and Ecol.*, 30, 749-761.
- Misra, S., Ghosh, K.M., Choudhury, A., Dutta, K. A., Pal, K. P. and Ghosh, A., 1985. Fatty Acids From *Macoma sp.* of Bivalve Mollusc. *J. Sci. Food Agric.*, 36, 1193-1196.
- Pazos, J.A., Ruiz, C., Martin, G.O., Abad, M., Sanchez, L.J. 1996. Seasonal Variation of the Lipid Content And Fatty Acid Composition of *Crassostrea gigas* Cultured in El Grove, Galicia, N.W. SPAIN. *Comp. Biochem. Physiol.*, 114B (2), 171-179.
- Pazos, J.A., Sanches, L.J., Roman, G., Perez-Parelle, M.L., Abad, M. 2003. Seasonal Changes in Lipid Classes and Fatty Acids Composition in Digestive Gland of *Pecten maximus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 134B, 367-380.
- Pollero, R.J., Irazu, C.E., Brenner, R.R. 1983. Effect of Sexual Stage On Lipids and Fatty Acids of *Diplodon delodontus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 76B, 927-931.
- Rudin, D.O. 1982. the Dominant Diseases of Modernized Societies As Omega-3 Essential Fatty Acid Deficiency Syndrome: Substrate Beri-beri. *Med. Hypotheses*, 8, 17-47.
- Sargent, J.R. 1976. Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology, Pp 149-212, in Malin, D.C. and Sargent, J.R. (editors). *The Structure, Metabolism and Function of Lipids in Marine Organisms*. Academic Press, London.
- Stanley, D.W., Howard, R.W. 1998. the Biology of Prostaglandins and Related Eicosanoids in Invertebrates: Cellular Organismal and Ecological Actions. *Am Zool* 38: 369-381.
- Stanley-Samuelson, D.W., Dadd, R.H. 1983. Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids: Patterns of Occurrence in Insects. *Biochemistry*, 13, 549-558.
- Wennmalm, A. 1977. Vasodilatory Action of Arachidonic Acid in Human Following Indomethacin Treatment. *Prostaglandins*, 13, 809-810.
- Zhukova, N.V. 1991. The Pathway of the Biosynthesis of Non-Methylene-Interrupted Dienoic Fatty Acids in Molluscs. *Comp. Biochem. Physiol.*, 110B, 801-804.