

На правах рукописи

ПЕККОЕВА

Светлана Николаевна

**ИЗМЕНЕНИЕ ЛИПИДНОГО СОСТАВА МЫШЦ И ЛИПИДНОГО МЕШКА
ПРЕДСТАВИТЕЛЯ АРКТИЧЕСКОЙ ИХТИОФАУНЫ ЛЮМПЕНА
ПЯТНИСТОГО *LEPTOCLINUS MACULATUS*
В ПОСТЭМБРИОНАЛЬНОМ РАЗВИТИИ**

03.01.04. – Биохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург – 2018

Работа выполнена в Институте биологии – обособленном подразделении Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук» (ИБ КарНЦ РАН), г. Петрозаводск

Научный руководитель: Немова Нина Николаевна

доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, руководитель научного направления «Биологические науки» Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», главный научный сотрудник лаборатории экологической биохимии ИБ КарНЦ РАН

Официальные оппоненты:

Гладышев Михаил Иванович

доктор биологических наук, профессор, заместитель директора по науке и заведующий лабораторией экспериментальной гидроэкологии Института биофизики Сибирского отделения Российской академии наук – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Красноярск

Чеботарева Марина Александровна

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, г. Санкт-Петербург

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь

Защита состоится «29» мая 2018 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 002.127.01 по защите докторских и кандидатских диссертаций при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук (ИЭФБ РАН) по адресу: 19422, г. Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ИЭФБ, с авторефератом – на сайте ВАК РФ, с диссертацией и авторефератом – на сайте ИЭФБ РАН: <http://www.iephb.ru>

Автореферат разослан « ___ » _____ 2018 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
д.б.н. Р.Г. Парнова



ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Липиды являются важнейшими структурными и функциональными компонентами всех живых систем. Они играют роль структурной основы любой биологической мембраны, обеспечивают энергетические потребности организма. Многие липиды являются биологически активными веществами или их предшественниками, участвующими в регуляции многообразных физиолого-биохимических процессов (Алесенко, 1998; 2013; Дятловицкая, Безуглов, 1998; Сергеева, Варфоломеева, 2006; Перевозчиков, 2008; Lagarde et al., 2016).

Липиды считаются незаменимыми компонентами в реализации комплекса сформировавшихся в эволюции биохимических адаптаций, направленных на запуск компенсаторных реакций клетки, поэтому изменения липидного статуса в процессе индивидуального развития организма могут отражать состояние популяций животных, в том числе гидробионтов – эктотермных организмов, развитие которых происходит в постоянно изменяющихся условиях среды (Хочачка, Сомеро, 1988; Hochachka, Somero, 2002). Липиды определяют репродуктивные процессы, рост, развитие и выживаемость рыб, могут выступать в качестве дополнительных биохимических индикаторов их состояния на любой стадии онтогенеза (Мацук, Лапин, 1972; Мацук, 1975; Tocher, 2003; 2010). Следует отметить, что липидный и жирнокислотный состав представителей арктической ихтиофауны исследован недостаточно, тогда как системное изучение биохимии и физиологии ключевых видов морских приполярных экосистем очень важно для раскрытия особенностей механизмов биохимических адаптаций у арктических видов в раннем онтогенезе. Кроме того, в современных условиях повышенного интереса к Арктике результаты работы могут иметь значение при разработке государственных стратегий по освоению и развитию данного региона, для решения экологических проблем, связанных с повышенной чувствительностью рыб к климатическим изменениям.

Исследуемый в работе объект – представитель придонной арктической ихтиофауны – люмпен пятнистый *Leptoclinus maculatus* (Fries, 1838) из семейства Стихеевых (отряд Окунеобразные), который распространен в Арктике вплоть до 79° с.ш. и обитает при низких температурах от –1,2 до 2,0 °С и высокой солености – 33–35 ‰ (Андряшев, 1954; Нельсон, 2009; Mecklenburg et al., 2011). Он имеет большое значение как промежуточное звено в арктических трофических цепях, где выступает одновременно в роли хищника и жертвы. Люмпен является ценным высокоэнергетическим объектом питания для многих видов рыб, птиц и млекопитающих (Barret, 2002; Weslawski et al., 2006; Labansen et al., 2007).

ОЛ – общие липиды; *ФЛ* – фосфолипиды; *ФИ* – фосфатидилинозит; *ФС* – фосфатидилсерин; *ФХ* – фосфатидилхолин; *ФЭА* – фосфатидилэтанолламин; *СФМ* – сфингомиелин; *ЛФХ* – лизофосфатидилхолин; *ТАГ* – триацилглицерины; *ХС* – холестерин; *ЭХС* – эфиры холестерина; *В* – воска; *ЖК* – жирные кислоты; *НЖК* – насыщенные ЖК; *МНЖК* – мононенасыщенные ЖК; *ПНЖК* – полиненасыщенные ЖК; *ДГК* – докозагексаеновая кислота; *ЭПК* – эйкозапентаеновая кислота; *(n-x)* – положение двойной связи от конечной метильной группы в молекуле ЖК, где *x* – номер углеродного атома, от которого начинается первая двойная связь.

Люмпен пятнистый уникален многостадийным и длительным развитием со сменой зоны обитания. Молодь люмпена развивается в пелагиали до 3-летнего возраста, а затем становится ювенильной особью, ведущей придонный образ жизни, в возрасте около 5 лет (Meyer Ottesen et al., 2011). Уникальной особенностью личинок люмпена является наличие специального образования в брюшной части тела, провизорного органа – так называемого «липидного мешка». Среди представителей арктической ихтиофауны липидный мешок обнаружен только у рыб семейства Стихеевых и детально описан на примере люмпена пятнистого (Falk-Petersen et al., 1986a; Мурзина, 2010). Он выполняет, в первую очередь, запасную функцию, аккумулируя большое количество липидов, а также обеспечивает плавучесть личинок.

Следует отметить, что к настоящему времени сведения об онтогенезе люмпена пятнистого *Leptoclinus maculatus* (Fries, 1838), его питания и росте немногочисленны (Falk-Petersen et al., 1986a; Murzina et al., 2008; 2012; 2013a; Мурзина, 2010; Meyer Ottesen et al., 2011). Данная работа является продолжением и развитием исследований по липидному составу люмпена, результаты которых представлены в основном в наших работах и в статьях норвежских коллег (Falk-Petersen et al., 1986a; Murzina et al., 2008; 2012; 2013a,b; Мурзина, 2010; Мурзина и др., 2010; Meyer Ottesen et al., 2011; Пеккоева и др., 2017а,б).

Изучение динамики содержания липидов и жирных кислот как структурных, так и энергетических липидов в мышцах и в липидном мешке люмпена пятнистого в процессе постэмбрионального развития позволит получить новые данные об особенностях липидного обмена, механизмов биохимических адаптаций с участием липидов в процессе развития рыб в условиях биотических (питание) и абиотических факторов среды высоких широт.

В связи с вышеизложенным, были определены следующие цели и задачи исследования.

Цель исследования:

изучить динамику содержания липидов и их жирнокислотных компонентов в мышцах и в липидном мешке молоди люмпена пятнистого *Leptoclinus maculatus*, обитающего в заливе Конгсфьорд архипелага Шпицберген, в процессе постэмбрионального развития и роста.

Задачи исследования:

- Провести сравнительный анализ количественного и качественного состава липидов и их отдельных классов – фосфолипидов (в том числе фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина, фосфатидилсерина, фосфатидилинозитола, лизофосфатидилхолина, сфингомиелина), холестерина, триацилглицеринов, эфиров холестерина в мышцах и в липидном мешке люмпена пятнистого на стадиях раннего постэмбрионального развития L1, L2, L3, L4, L4*, L5;

- Провести сравнительный анализ спектра жирных кислот структурных (фосфолипидов) и запасных (триацилглицеринов) липидов в мышцах и в липидном мешке люмпена пятнистого на стадиях раннего постэмбрионального развития L1, L2, L3, L4, L4*, L5 и в мышцах взрослых особей;
- Установить особенности поступления жирных кислот по трофическим цепям от фито-, зоопланктона и донных беспозвоночных к люмпену пятнистому в процессе его развития и их влияние на процессы роста молоди рыб.

Научная новизна. Впервые получены данные о динамике содержания отдельных классов липидов и жирных кислот структурных и энергетических липидов в мышцах и в липидном мешке молоди люмпена пятнистого *Leptoclinus maculatus* (Fries, 1838) из Конгсфьорда (арх. Шпицберген) на стадиях его раннего постэмбрионального развития L1, L2, L3, L4, L4*, L5 в зимний период. Установлено, что уровень полиненасыщенных жирных кислот понижается, а мононенасыщенных жирных кислот повышается в процессе развития молоди люмпена от L1 к L5 стадии развития. Впервые установлена связь между содержанием липидов и жирных кислот структурных и энергетических липидов в мышцах и в липидном мешке и питанием в раннем онтогенезе люмпена в условиях полярной ночи. Показано, что содержание мононенасыщенных жирных кислот в составе триацилглицеринов мышц люмпена значительно повышается в процессе его постэмбрионального развития, что связано со сменой зоны обитания и характера питания: высокий уровень 22:6(n-3), 18:1(n-9) жирных кислот у пелагических личинок на стадии развития L1 – с питанием динофитовыми водорослями в составе фитопланктона; высокое содержание биомаркерных 22:1(n-11), 20:1(n-9) жирных кислот со стадии развития L2 – с началом активного питания зоопланктоном рода *Calanus*; 18:1(n-9), 18:1(n-7), 16:1(n-7) жирных кислот у взрослой придонной рыбы – с питанием беспозвоночными бентоса. Впервые показано, что одним из признаков, вносящих вклад в фенотипическую разнокачественность молоди люмпена, является установленное различие в содержании жирных кислот – 14:0, 16:0, 18:0, 16:1(n-7), 18:1(n-9), 20:1(n-9), 22:1(n-11), 18:2(n-6), 20:4(n-6), 18:3(n-3), 20:5(n-3), 22:5(n-3), 22:6(n-3).

Основные положения, выносимые на защиту:

- Качественный и количественный состав липидов и жирных кислот молоди люмпена пятнистого определяет его сходство с другими видами морской холодноводной ихтиофауны (высокое содержание длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот n-3 семейства, нейтральных липидов), при этом имеются специфические особенности – высокий уровень моноеновых жирных кислот, в основном в виде биомаркерных жирных кислот калянусов – 20:1(n-9), 22:1(n-11);

- Изменение жирнокислотного состава в постэмбриональном развитии люмпена пятнистого отражает особенности его питания: высокий уровень 22:6(n-3), 18:1(n-9) жирных кислот на стадии L1 указывает на питание динофитовыми водорослями в составе фитопланктона; высокое содержание 20:1(n-9) и 22:1(n-11) жирных кислот со стадии развития L2 – на начало активного питания зоопланктоном рода *Calanus*; жирных кислот 18:1(n-9), 18:1(n-7), 16:1(n-7); у взрослого люмпена – на питание беспозвоночными бентоса.

Теоретические и практическое значение работы. Результаты детального исследования липидного состава в раннем постэмбриональном развитии одного из ключевых видов арктических экосистем – люмпена пятнистого *L. maculatus*, помимо фундаментального значения для получения новых знаний о липидном составе в раннем онтогенезе рыб, о взаимоотношениях организма и среды (в том числе для биохимии, физиологии, биологии развития, экологии), могут быть использованы в решении ряда практических задач, связанных, например, с оценкой продуктивности ценных промысловых видов рыб (атлантическая треска, полярная треска, камбала), для которых пелагическая молодь люмпена является высокоэнергетическим источником питания. Данные о составе жирных кислот экологически значимого вида – люмпена пятнистого, могут быть использованы и при составлении кормов для эффективного выращивания рыб северных регионов в аквакультуре, с учетом того, что в последнее время активно развивается направление культивирования холодноводных морских рыб (Журавлева, 1996; Svasand et al., 2004), а также при разработке биологически активных веществ особой ценности. Результаты работы могут быть использованы в комплексной эколого-биохимической индикации состояния ихтиофауны арктического региона на организменном и популяционном уровне и для оценки приспособительных возможностей у гидробионтов северных широт при определении границ их толерантности в условиях изменения климата.

Апробация работы. Основные результаты диссертации были представлены в виде 9 устных и 8 стендовых докладов: на Международном конгрессе «International Congress on the Biology of Fish» (Эдинбург, 2014); II Всероссийской Интернет-конференции с международным участием «Липидология – наука XXI века» (Казань, 2014); на международных конференциях «Комплексные исследования природы Шпицбергена и прилегающего шельфа» (Мурманск, 2014); «Arctic Change 2014» (Оттава, 2014); «Arctic Frontiers 2015 – Climate & Energy» (Tromsø, 2015); «Gordon Research Conference. Polar Marine Science» (Лукка, 2015); «39th Annual Larval Fish Conference» (Вена, 2015); «Функционирование и динамика водных экосистем в условиях климатических изменений и антропогенных воздействий» (Санкт-Петербург, 2015); «57th International Conference on the Bioscience of Lipids» (Chamonix - Mont Blanc, 2016); XXVIII Зимней молодежной научной школе «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии» (Москва, 2016); Российско-финском научном семинаре «Biochemical biomarkers for environmental bioindication and biomonitoring» (Петрозаводск, 2016); Конгрессе Университета Арктики (UArctic-2016) (Санкт-

Петербург, 2016); XV Всероссийском совещании с международным участием по эволюционной физиологии, посвященных памяти академика Л.А. Орбели и 60-летию ИЭФБ РАН (Санкт-Петербург, 2016); Annual meeting SEB (Gothenburg, 2017); на международных конференциях «Живая природа Арктики: сохранение биоразнообразия, оценка состояния экосистем» (Архангельск, 2017); «Young Biologists Science Week-2017» (Петрозаводск, 2017).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 27 работ, их них 5 статей в рецензируемых научных журналах, в том числе рекомендованных ВАК для публикации результатов научных исследований, и 22 тезиса и материалов докладов.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, четырех глав: обзора литературы, материалов и методов, результатов исследования, обсуждения результатов, а также заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 164 страницах, документирована 26 рисунками, 17 таблицами. Список литературы содержит 309 источников, из них 174 иностранные.

Личный вклад. Автор принимал участие лично во всех этапах подготовки диссертационной работы: при постановке и решении цели и задач исследования, проведении экспериментов, сборе полевого материала, статистической обработке и анализе данных, в подготовке публикаций на основе полученных результатов.

Благодарности. Автор выражает искреннюю признательность и благодарность преподавателям и наставникам: научному руководителю – д.б.н., проф., чл.-корр. РАН Н.Н. Немовой, научным консультантам – к.б.н. С.А. Мурзиной, к.б.н. З.А. Нефедовой, а также другим сотрудникам лаборатории экологической биохимии ИБ КарНЦ РАН – д.б.н. А.Л. Рабиновичу, д.б.н. Л.П. Смирнову, к.б.н. П.О. Рипатти, к.б.н. Т.Р. Руоколайнен, главному химику Л.В. Марковой. Отдельная благодарность д.б.н., проф. Е.П. Иешко за ценную профессиональную помощь, научные дискуссии по работе с публикациями. Глубокая благодарность к.б.н., проф. С. Фальк-Петерсену, д.б.н., проф. Й. Берге, к.б.н., проф. О.Й. Лонне за ценные советы и всестороннюю помощь в организации экспедиций на норвежском научном судне «Helmer Hanssen» (UiT), а также автор выражает признательность судовой команде «Helmer Hanssen».

Исследование проводилось при поддержке программы Президента РФ «Ведущие научные школы» НШ-1410.2014.4, Программы Президиума РАН, проекта «Эколого-биохимическая характеристика устойчивости гидробионтов Арктической зоны России в условиях изменения климата» (№ 0221-2016-0001), РФФИ (№ 17-04-00466), международного проекта «Timing of ecological processes in Spitsbergen fjords».

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы представлены сведения о роли липидов и их жирнокислотных компонентов в метаболизме животных, биохимических механизмах адаптации рыб в процессе роста и развития в условиях Арктики и Субарктики. Изложены современные представления о липидном и жирнокислотном составе в раннем развитии рыб высоких широт. Обозначены основные типы и периодизация раннего онтогенеза костистых рыб. Рассмотрены особенности раннего постэмбрионального развития люмпена пятнистого *L. maculatus*, роль липидного мешка молоди люмпена как морфофункционального образования, необходимого для успешного роста и развития данного вида в Арктике.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материал исследования

Материалом исследования были молодь и взрослые особи люмпена пятнистого. Разделение молоди люмпена на стадии развития проводили согласно классификации К. Мейер Оттесен с соавт. (Meyer Ottesen et al., 2011), в которой представлено 5 стадий развития (L1, L2, L3, L4, L5), выделенных на основе возрастных и морфологических характеристик – размерно-весовых, окраски и пигментации тела, наличия и параметров липидного мешка. В ходе нашей экспедиции была выделена стадия развития – L4*, которая отличалась от стадии L4 более темной окраской тела и крупными размерами тела и жабр, а от ювенильной стадии развития L5 – наличием крупного липидного мешка.

Для анализа липидов использовали:

- мышцы (тушки) молоди люмпена пятнистого**, обитающей в разных экологических зонах толщи воды:
 - пелагических личиночных стадий развития L1, L2, L3;
 - переходных стадий развития L4, L4*;
 - придонной ювенильной стадии развития L5;
- липидный мешок** молоди люмпена стадий развития L3, L4, L4* (рисунок 1). Извлечение липидного мешка для анализа у молоди люмпена стадий L1 и L2 было затруднительным ввиду его плохой сформированности и небольшого объема, а у ювенильной стадии развития L5 липидный мешок резорбируется;



Рисунок 1. Личинка пятнистого люмпена стадии развития L4*. Абсолютная длина тела – 89 мм; (| |) – границы липидного мешка

- мышцы взрослых особей** (навеска 1 г из хвостовой части тела).

Сбор молодежи и взрослых особей люмпена пятнистого проводили в январе 2014 г. (полярная ночь) в акватории арх. Шпицберген, в заливе Конгсфьорд (78°57'с.ш. 11°56'в.д.) в ходе научной экспедиции на научном судне «Helmer Hanssen» (The Arctic University of Norway, Tromsø). Видовую принадлежность рыб определяли с использованием данных М.П. Фахей (Fahay, недат.). Гидродинамические параметры сбора биоматериала, оборудование для вылова молодежи, количество проб (n), используемых для анализа, указаны в таблице 1. Вылов взрослых особей люмпена (24 шт) проводили с помощью донного трала.

Таблица 1. Гидродинамические параметры сбора молодежи люмпена в Конгсфьорде

Стадия	L1	L2	L3	L4	L4*	L5
n	6	30	40	30	12	17
Оборудование	Сеть «МИК»	Пелагический трал		Донный трал		
Глубина вылова, м	30	125		>130		
Температура, °С	0,60–1,90	0,90–1,10		0,60–0,80		
Соленость, ‰	34,8	34,8		34,7–34,8		

В связи с отсутствием данных о параметрах роста люмпена пятнистого в Конгсфьорде в зимний период во время рейса были сделаны морфологические промеры (абсолютной длины тела, длины липидного мешка) 260 экз. молодежи люмпена. Ихтиологические исследования рыб осуществлены по общепринятой методике (Правдин, 1966; Мина, Клевезаль, 1976). Показано, что размеры тела молодежи люмпена стадии развития L1 варьируют в диапазоне от 2,4 до 4,2 см. Заметно высокий прирост средней длины тела отмечен к L2 стадии – 2,4 см. Ювенильные особи – L5 стадии развития могут достигать в длину 9,8 см. Следует отметить, что вариабельность размеров молодежи люмпена относительно невысока, значения коэффициентов вариации превышали 10 % только у личинок стадий L1 и L4. Липидный мешок формируется при переходе личинки (L1) на экзогенное питание и имеет размеры $1,63 \pm 0,01$ см у люмпена стадии L2, что составляет 28% общей длины тела рыбы. Установлено, что для каждой последующей стадии развития характерно увеличение размеров липидного мешка, максимальная длина которого на стадии L4* составляет 2,2 см (или 24,3 % длины тела). Размеры липидного мешка достоверно не различаются только у стадий L3 и L4.

Вариабельность общей длины тела и размеров липидного мешка для отдельных стадий развития люмпена показывает, что наиболее гетерогенной является возрастная группа люмпена стадии L4, где среди рыб выделяются медленнорастущие и быстрорастущие, из которых затем возможно формируется группа особей стадии развития L4*. Рыбы данной стадии растут быстро и при этом у них так же динамично увеличиваются размеры липидного мешка. Показаны достоверные различия по длине тела и липидного мешка у личинок люмпена стадий L4 и L4*. У мальков люмпена (L5), ведущих придонный образ жизни, наблюдается резорбция липидного мешка, средние размеры которого уменьшаются практически в 2 раза.

2.2 Методы исследования

Экстракция липидов и анализ общих липидов. Мышцы и липидные мешки исследуемых рыб фиксировали в 96 % этаноле. Липиды экстрагировали по методу Дж. Фолча – смесью хлороформа с метанолом (2:1 по объему) (Folch, 1957). Фракционирование суммарных липидов проводили методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Silufol» в системе растворителей: петролейный эфир:серный эфир:уксусная кислота (90:10:1 по объему). Для количественного определения общих ФЛ, ТАГ, ЭХС+В использовали гидроксаматный метод, принцип которого заключается в образовании темно-коричневых комплексов между ионами трехвалентного железа и гидроксамовыми кислотами, которые образуются при взаимодействии сложноэфирных связей липидов с гидроксиламином (Walsh et al., 1965; Сидоров и др., 1972). Количественное определение ХС проводили по методу Ф. Энгельбрехта (Engelbrecht et al., 1974) с использованием трихлоруксусного железа, растворенного в хлорной кислоте.

Определение состава фосфолипидов. Определение количественного состава отдельных классов ФЛ осуществляли на жидкостном хроматографе «Стайер» (ООО «Аквилон», Россия). Детектирование анализируемых компонентов проводили на спектрофотометре по поглощению в УФ-свете при длине волны 206 нм (Arduini et al., 1996).

Определение жирнокислотного состава. Определение жирнокислотного спектра общих липидов проводили методом газожидкостной хроматографии. Выделенные липиды подвергали прямому метанолизу (Цыганов, 1971). Полученные метиловые эфиры ЖК разделяли на хроматографе «Хроматэк - Кристалл-5000.2» (Россия) с ДАЖ-2М (дозатор автоматический жидкостный).

Расчеты количества липидов в пробе и статистическая обработка данных. Расчеты количества липидов в пробе проводили с использованием формул, источником которых являются калибровочные кривые, для построения которых использовали чистые стандарты («Sigma Aldrich»). Статистический анализ проводили с использованием пакета Excel и компьютерной программы Statgraphics 2.5 для Windows. Достоверность различий между липидными показателями оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (One-way ANOVA), а также с помощью непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни (Гублер, Генкин, 1973). Изменчивость содержания жирнокислотного состава была проанализирована с использованием дискриминантного анализа как метода многомерной статистики (Коросов, Горбач, 2007). Различия между приведенными в таблицах значениями отдельных липидных показателей в сравниваемых вариантах считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Исследования выполнены на базе лаборатории экологической биохимии с использованием оборудования Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

ГЛАВА 3, 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. Содержание общих липидов и их классов в мышцах и в липидном мешке молоди люмпена пятнистого *Leptoclinus maculatus*

Содержание ОЛ повышается как в мышцах (от 13,0 до 22,9 % сухой массы), так и в липидном мешке (от 76,0 до 92,3 % сухой массы) в процессе развития молоди люмпена пятнистого. У молоди люмпена (переходных стадий развития L4, L4* и ювильной – L5) уровень ОЛ в мышцах более высокий ($p \leq 0,05$) (16,9–22,87 % сухой массы) по сравнению с таковым у пелагических стадий L1–L3 (таблица 2). Достоверно более высокий уровень ОЛ показан и в липидном мешке люмпена стадии L4* (92,3 % сухой массы). Молодь люмпена старшего возраста характеризуется большими энергоресурсами и мышечной массой, плавательной активностью и поэтому имеет больше возможностей для добывания пищи, что способствует накоплению липидов. Для рыб северных широт запасание липидов является одним из механизмов биохимических адаптаций к низким температурам и происходит, в том числе, за счет снижения активности метаболических процессов (Лапин, Шатуновский, 1985; Карамушко, 2014). Известно, что уровень ОЛ в мышцах рыбы повышается с увеличением длины и массы ее тела, что отмечено и для люмпена. Повышение содержания ОЛ в мышцах молоди люмпена в процессе развития происходит за счет значительного роста уровня ТАГ – от 1,6 до 13,4 % сухой массы (таблица 2). Накопление ТАГ в мышцах молоди люмпена в процессе развития демонстрирует общую тенденцию усиления биосинтеза нейтральных липидов с возрастом рыбы, что приводит к их накоплению для поддержания на должном уровне процессов энергетического обмена в общем метаболизме (Шатуновский, 2009).

Таблица 2. Содержание липидных компонентов (% сухой массы) в мышцах молоди люмпена пятнистого

Параметр	Стадия развития					
	L1	L2	L3	L4	L4*	L5
N	6	30	40	30	12	17
ОЛ	13,0±0,8	14,2±0,4	13,9±0,5	16,9±0,6 ^{abc}	22,9±0,9 ^{abcd}	21,4±2,0 ^{abc}
ФЛ	8,5±1,5	7,9±0,9	7,7±0,7	7,1±0,1	6,0±1,0	4,6±2,4
ХС	1,5±0,2	2,0±0,1	2,9±1,2	2,3±0,2	2,0±0,2	2,1±0,2
ТАГ	1,6±0,2	3,1±0,4 ^a	2,4±0,2	6,2±0,7 ^{abc}	12,9±1,0 ^{abcd}	13,4±1,9 ^{abcd}
ЭХС+В	1,4±0,1	1,2±0,1	0,9±0,1	1,3±0,1	2,0±0,3	1,3±0,2

Примечание. Значения представлены в виде: среднее арифметическое ± ошибка среднего значения (M±m); n – число проб. Различия достоверны ($p \leq 0,05$): a – от стадии L1; b – от стадии L2; c – от стадии L3; d – от стадии L4.

Установлено, что в мышцах пелагических личинок люмпена пятнистого L3–L4 стадии содержится 87 % от суммы всех липидов тушки и 13 % откладывается в липидном мешке. Липидный мешок – уникальное образование личинок люмпена. Его функция как энергетического депо подтверждается высоким уровнем ОЛ (до 92 % сухой массы), среди которых основную долю составляют ТАГ, в том числе и

в зимний период (до 61 % сухой массы) (Пеккоева и др., 2017а). Как показано ранее в исследованиях С.А. Мурзиной (2010), уровень ТАГ в липидном мешке молоди люмпена летом составляет 58,3 % сухой массы. В настоящей работе впервые установлено, что в составе липидного мешка зимой кроме ТАГ и ФЛ содержится также 3,1-7,1% сухой массы ЭХС и 4,0-6,2% – ХС, которые не обнаруживались у молоди люмпена в летний период (Мурзина, 2010). Эта особенность, вероятно, связана с функционированием мембран липидного мешка при низких температурах в полярную ночь.

Таким образом, основным трендом для личинок люмпена является использование липидов, запасенных в тканях и органах, прежде всего, для энергетических нужд в процессе развития организма: для поддержания метаболизма на должном уровне при недостатке пищи зимой, при смене экологической зоны обитания в процессе метаморфоза (при переходе с пелагического на придонный образ жизни). Одной из функций липидного мешка у молоди люмпена является обеспечение плавучести за счет накопления ТАГ. А накопление липидов в мышцах – один из механизмов уменьшения удельной плотности тела и достижения личинками рыб состояния «нейтральной» плавучести, что энергетически выгодно и необходимо для обитания в толще воды (Eastman, DeVries, 1989; Сиделова, Козлова, 2010). Устойчивое развитие личинок люмпена зимой и в условиях полярной ночи во многом определяется качеством, количеством, доступностью кормовых объектов и, как следствие, запасанием необходимого количества липидов, прежде всего в продуктивный период летом.

При исследовании содержания отдельных классов ФЛ в мышцах молоди люмпена показано, что на всех стадиях его развития доминирует ФХ (67–75 % суммы ФЛ), который является основным компонентом биомембран всех животных клеток, в меньших количествах присутствуют ФЭА (19–25% суммы), а также другие ФЛ, значения которых не имели достоверных отличий по содержанию между стадиями (таблица 3).

Таблица 3. Содержание отдельных классов фосфолипидов (% суммы ФЛ) в мышцах молоди люмпена пятнистого

Фосфолипид	Стадии развития					
	L1	L2	L3	L4	L4*	L5
N	6	30	40	30	12	17
ФИ	1,5±0,6	2,6±0,3	3,8±0,9	2,8±0,4	2,2±0,1	2,8±0,3
ФС	1,5±0,5	2,0±0,3	3,4±1,2	3,2±0,3	2,6±0,1	3,5±0,4
ФЭА	19,8±4,7	18,8±2,5	24,6±2,8	22,3±1,6	20,6±0,6	22,4±1,0
ФХ	74,4±5,4	74,8±3,0	66,5±4,1	69,4±2,3	71,8±0,8	67,9±3,2
ЛФХ	0,7±0,3	0,3±0,1	0,1±0,02	0,4±0,1	0,7±0,3	1,1±0,2
СФМ	1,2±0,2	1,4±0,1	1,5±0,1	1,6±0,2	1,6±0,2	1,8±0,1
Неизвестные	0,9±0,1	0,1±0,02	0,04±0,01	0,3±0,1	0,5±0,1	0,5±0,1

Примечание. Значения представлены в виде $M \pm m$ (среднее арифметическое \pm стандартная ошибка среднего значения); n – число проб.

Анализ содержания (% суммы ФЛ) отдельных классов ФЛ в составе липидного мешка показал, что к стадии развития L4* люмпена повышается доля холин-содержащих ФЛ – ФХ (от 68,1 до 70,9 % суммы ФЛ) и ЛФХ (от 0,9 до 7,2 % суммы ФЛ), а также СФМ (2,5 до 6,0 %). Отмечено понижение содержания ФЭА к L4* стадии (от 22,2 до 11,0 % суммы) (таблица 4). Подобные изменения в уровне ФЛ могут быть связаны с активацией процесса резорбции липидного мешка у придонной ювенильной стадии развития люмпена (L5).

Таблица 4. Содержание отдельных классов фосфолипидов (% суммы ФЛ) в липидном мешке молоди люмпена пятнистого

Фосфолипид	Стадия развития		
	L3	L4	L4*
N	40	30	12
ФИ	2,4±0,6	2,7±0,9	3,0±0,9
ФС	3,3±1,5	2,3±1,3	1,5±0,4
ФЭА	22,2±1,0	17,1±7,9 ^c	11,0±0,8 ^{cd}
ФХ	68,1±0,5	67,5±0,6	70,9±0,7 ^{cd}
ЛФХ	0,9±0,2	2,2±0,3 ^c	7,2±0,8 ^{cd}
СФМ	2,5±0,5	3,9±1,1 ^c	6,0±0,9 ^{cd}
Неизвестные	0,6±0,2	4,3±0,6 ^c	0,4±1,8

Примечание. Значения представлены в виде M±m (среднее арифметическое±стандартная ошибка среднего значения); n – число проб. Различия достоверны (p≤0,05): с – от стадии L3; d – от стадии L4.

Известно, что образование ЛФХ происходит не только за счет деградации ФХ, но и может иметь частичный синтез из моноацилглицерина в результате гидролиза ТАГ с последующим фосфорилированием и присоединением холина (Aarsman, van den Bosch, 1980). В липидном мешке личинок люмпена отмечено снижение ТАГ с 60,7 до 55,2 % сухой массы.

2. Жирнокислотный спектр мышц и липидного мешка люмпена пятнистого

При анализе ЖК спектра как ОЛ, так и их отдельных классов (ФЛ и ТАГ) в мышцах и в липидном мешке молоди люмпена было идентифицировано около 40 ЖК. Установлено повышение содержания МНЖК в мышцах люмпена в процессе развития от личинки до ювенильной особи (от 26,0 до 53,1 % суммы ЖК общих липидов) и понижение – ПНЖК (от 45,0 до 30,7 %). Известна важная роль ПНЖК на ранних стадиях развития рыб (Tocher, 2003; Parrish, 2009). В работе показано, что уровень НЖК и ПНЖК выше (p≤0,05) в ФЛ мышц молоди люмпена пятнистого, а содержание МНЖК – в ТАГ (таблица 5, 6). Следует отметить, что на L1 стадии развития люмпена содержание ПНЖК в ФЛ (35,4 % суммы ЖК) и в ТАГ (36,2 %) не различается (p≤0,05), что может указывать на значительное поступление этих ЖК при питании и включение не только в состав структурных, но и запасных липидов.

Среди ПНЖК в мышцах и в липидном мешке личинок люмпена преобладают ЖК n-3 семейства, особенно 20:5(n-3) ЭПК и 22:6(n-3) ДГК, что характерно для морских рыб высоких широт (Sargent et al., 2002; Burri et al., 2012), которые получают их с пищей. Уровень ПНЖК выше в мышцах люмпена (до 44,6 % суммы ЖК общих липидов) по сравнению с их содержанием в липидном мешке (до 16,5 %). Уровень ПНЖК в мышцах морских рыб из тропических регионов ниже (до 25 % суммы ЖК), по сравнению холодноводными рыбами (Ogozul et al., 2011).

Таблица 5. Содержание некоторых жирных кислот в **фосфолипидах** мышц молоди люмпена пятнистого

ЖК	Стадия развития					
	L1	L2	L3	L4	L4*	L5
16:0	30,3±0,1	18,0±0,2 ^a	22,2±0,4 ^b	21,6±0,5 ^b	16,4±0,4	16,0±0,6
18:0	7,9±0,1	2,3±0,1 ^a	3,5±0,3 ^{ab}	4,7±0,3	3,9±0,1 ^a	4,5±0,2
∑ НЖК	45,5±0,1	24,2±0,4	31,1±0,7 ^b	34,3±1,3	26,9±0,7	29,5±1,5
18:1(n-9)	11,8±0,1	7,8±0,1	8,2±0,3	8,6±0,2	7,1±0,2	7,8±0,3
20:1(n-9)	1,0±0,1	6,2±0,8 ^a	7,6±0,4	9,0±0,7	9,0±0,6	8,9±1,0
22:1(n-11)	0,6±0,1	1,6±0,1 ^a	1,5±0,1	2,8±0,6	4,5±0,9	4,6±1,0
∑ МНЖК	19,0±0,1	21,9±1,2	24,3±0,8	28,6±1,7	27,8±1,4	29,3±1,9
18:2(n-6)	1,4±0,1	2,2±0,1	2,3±0,1	2,1±0,1	2,0±0,1	1,7±0,1
20:4(n-6)	1,0±0,1	0,9±0,1	0,8±0,1	0,7±0,1	0,9±0,1	1,2±0,3
∑ (n-6) ПНЖК	6,8±0,1	5,0±0,3	4,3±0,1	4,3±0,2	4,9±0,3	5,3±0,4
18:3(n-3)	0,3±0,1	0,7±0,1 ^a	0,7±0,1 ^a	0,5±0,1	0,5±0,1	0,4±0,1
18:4(n-3)	0,3±0,1	1,9±0,1 ^a	2,0±0,1 ^a	1,7±0,2 ^a	2,0±0,2 ^a	1,5±0,2 ^a
20:5(n-3)	8,7±0,2	18,6±0,5 ^a	14,3±0,7 ^b	10,2±1,2	12,8±0,4	11,2±1,1
22:6(n-3)	15,8±0,1	25,1±0,7 ^a	20,7±0,7	14,7±1,6	19,4±0,5	16,3±1,4
∑ (n-3) ПНЖК	26,7±0,1	48,0±0,6 ^a	39,3±1,4 ^{ab}	28,8±3,1	36,7±0,9 ^c	31,7±2,6
∑ ПНЖК	35,4±0,1	53,8±0,9 ^a	44,6±1,3	37,1±2,8	45,3±1,0	41,3±2,3
∑n-3/ ∑n-6 ПНЖК	4,0±0,1	9,7±0,5 ^a	9,3±0,5	6,6±0,7	7,8±0,5	6,3±0,6

Примечание. Различия достоверны ($p \leq 0,05$): а – от L1 стадии; b – от L2 стадии; c – от L3 стадии.

Таблица 6. Содержание некоторых жирных кислот в **триацилглицеринах** мышц молоди люмпена пятнистого

ЖК	Стадия развития					
	L1	L2	L3	L4	L4*	L5
16:0	12,0±0,1	7,5±0,9 ^a	11,3±0,5 ^b	9,7±0,2	8,9±0,1	8,6±0,3
18:0	2,8±0,1	1,5±0,4 ^a	2,2±0,5	1,8±0,1	1,5±0,1 ^{ac}	1,6±0,1 ^{ac}
∑ НЖК	29,3±0,1	17,3±2,4 ^a	21,6±0,8	18,6±0,4 ^a	16,7±0,1 ^a	17,2±0,6 ^a
18:1(n-9)	10,2±0,1	7,2±0,7	9,8±0,7	7,0±0,2 ^a	6,2±0,1	5,9±0,3
20:1(n-9)	7,9±0,1	22,3±2,5 ^a	22,1±2,2 ^a	24,8±0,4 ^a	24,9±0,4 ^a	23,6±0,6 ^a
22:1(n-11)	8,6±0,3	23,0±3,3 ^a	17,3±1,6	21,6±0,4	21,3±0,8	23,2±1,2
∑ МНЖК	34,6±0,1	63,0±5,0 ^a	60,6±3,3	64,9±0,7	64,0±0,5	64,3±1,2
18:2(n-6)	7,6±0,1	3,3±0,4 ^a	2,7±0,2	2,3±0,1 ^a	2,2±0,1 ^a	2,2±0,1 ^a
20:4(n-6)	0,6±0,1	0,3±0,1	0,2±0,1	0,1±0,0	0,1±0,0	0,2±0,1

Σ (n-6) ПНЖК	15,7±0,1	7,8±1,7 ^a	3,4±0,3	3,3±0,2	3,4±0,1	3,4±0,3
18:3(n-3)	2,8±0,2	1,6±0,6	0,8±0,1 ^{ab}	0,7±0,1 ^{ab}	0,8±0,1 ^{ab}	0,7±0,1 ^{ab}
18:4(n-3)	1,3±0,1	1,7±0,3	2,5±0,2	2,8±0,3	3,4±0,2 ^{ab}	3,8±0,2 ^{ab}
20:5(n-3)	2,8±0,1	2,2±0,2	3,0±0,7	2,4±0,2	3,4±0,2	3,1±0,2
22:6(n-3)	5,9±0,2	3,2±0,2 ^a	5,1±1,3	3,7±0,3	4,5±0,2	3,9±0,2
Σ (n-3) ПНЖК	17,6±0,2	9,8±0,7	12,2±2,3	10,7±0,8 ^a	13,8±0,5	12,5±0,5 ^a
Σ ПНЖК	36,2±0,1	19,7±2,7 ^a	17,8±2,5	16,4±0,9 ^a	19,3±0,4 ^a	18,4±0,8 ^a
Σ n-3/ Σ n-6 ПНЖК	1,1±0,0	1,4±0,3	3,4±0,4	3,2±0,2	4,1±0,2	3,8±0,2

Примечание. Различия достоверны ($p \leq 0,05$): a – от L1 стадии; b – от L2 стадии, c – от L3 стадии.

Установлено понижение содержания n-3 ПНЖК общих липидов мышц люмпена с возрастом. Самая высокая концентрация ДГК и ЭПК показана в мышцах молоди L1 стадии (24,0 и 12,6 % суммы ЖК, соответственно). Исследование ЖК состава ПНЖК ФЛ и ТАГ в мышцах молоди люмпена показало, что ЖК n-3 семейства включаются преимущественно в состав ФЛ и существенно преобладают в количественном отношении по сравнению с другими ЖК (до 48 % суммы ЖК) (таблица 5, 6). Среди ЖК ФЛ ярко видно преобладание ДГК, а также ЭПК ЖК. Следует отметить, что среди ПНЖК ТАГ также доминируют n-3 ЖК, но их содержание существенно ниже (до 17,6 % суммы ЖК).

Преобладание ПНЖК n-3 семейства по сравнению с ПНЖК n-6 в составе ФЛ и ТАГ было отмечено и в липидном мешке люмпена. Их уровень значительно ниже, чем в мышцах. При этом в составе ФЛ преобладает 22:6(n-3), а в составе ТАГ – 18:4(n-3), 22:6(n-3) ЖК (таблица 7).

Таблица 7. Содержание некоторых жирных кислот в составе фосфолипидов и триацилглицеринов в липидном мешке молоди люмпена пятнистого

Жирные кислоты	Фосфолипиды			Триацилглицерины		
	Стадия развития					
	L3	L4	L4*	L3	L4	L4*
14:0	2,6±0,2	5,5±1,0	6,6±0,5	7,0±0,1	6,5±0,4	6,0±0,2
16:0	13,2±0,9	11,2±1,0	9,9±0,2 ^c	8,2±0,2	7,7±0,4	7,5±0,1
Σ НЖК	58,1±2,7	31,6±2,7 ^c	25,9±1,4 ^c	18,9±0,4	16,7±1,0	16,2±0,4 ^c
18:1(n-9)	4,7±0,3	4,5±0,3	4,1±0,1	5,3±0,1	4,6±0,3	4,6±0,1
20:1(n-9)	9,7±0,8	19,4±3,1	24,8±1,4 ^c	27,5±0,2	28,0±0,4	28,2±0,3
22:1(n-11)	7,7±0,7	16,5±2,7	20,4±1,5	26,9±0,6	29,3±0,7	27,8±,7
Σ МНЖК	26,3±1,9	49,7±6,3 ^c	60,6±3,3 ^c	70,7±0,6	73,7±0,4	73,1±1,0
18:2(n-6)	2,3±0,1	1,8±0,3	1,4±0,2	2,2±0,1	1,9±0,1	1,9±0,1
20:4(n-6)	0,1±0,0	0,3±0,1	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0
Σ (n-6) ПНЖК	2,3±0,1	5,1±1,1	3,4±0,5	3,0±0,2	2,6±0,1	2,7±0,1
18:3(n-3)	0,4±0,1	0,2±0,0	0,2±0,0	0,8±0,0	0,5±0,1	0,5±0,1
18:4(n-3)	0,8±0,1	0,5±0,1	0,7±0,1	1,9±0,1	1,7±0,4	2,0±0,4
20:5(n-3)	1,5±0,4	0,8±0,3	0,5±0,1	1,0±0,1	0,7±0,2	1,0±0,3
22:6(n-3)	4,6±0,5	2,8±0,4	2,0±0,2	1,6±0,1	1,3±0,2	1,5±0,3
Σ (n-3) ПНЖК	7,7±0,9	6,3±1,1	4,6±0,6 ^c	5,8±0,3	4,8±0,7	5,7±1,2
Σ ПНЖК	15,6±1,1	18,7±3,6	13,5±1,9	10,4±0,5	9,7±0,6	10,7±1,3
Σ n-3/ Σ n-6 ПНЖК	3,4±0,3	1,3±0,1	1,4±0,1	2,0±0,1	1,8±0,3	2,0±0,4

Примечание. Различия достоверны ($p \leq 0,05$): c – от L3 стадии.

Следует отметить, что уровень линолевой 18:2(n-6) и линоленовой 18:3(n-3) ЖК как в мышцах, так и в липидном мешке у молоди люмпена сравнительно низкий ($\leq 1,8$ % суммы ЖК общих липидов). Невысокий уровень этих ЖК ($\leq 0,5$ % суммы ЖК) был установлен и у сеголеток беломорской сельди *Clupea pallasii marisalbi* Berg (Немова и др., 2015a). Известно, что морские рыбы имеют ограниченную способность конвертировать эти ЖК в высоконенасыщенные ЖК (Sargent et al., 1995; Tocher, 2003).

Показатель соотношения $\sum n-3$ ПНЖК/ $\sum n-6$ ПНЖК в мышцах личинок люмпена высокий, при этом он снижается (от 10 до 7) от L1 к L5 стадии развития люмпена. Соотношение $\sum n-3$ ПНЖК/ $\sum n-6$ ЖК ПНЖК у морского холодноводного люмпена выше, чем у тепловодных морских рыб. Например, у рыб из Средиземного моря этот показатель варьирует от 2,9 до 4,4 (Prato, Biandolino, 2012), а у рыб из Тихого океана – от 4,9 до 8,1 (Murillo et al., 2014).

Установлено, что содержание 20:1(n-9) и 22:1(n-11) ЖК на L2 стадии в мышцах (13,2 и 11,9 % суммы ЖК общих липидов, соответственно), выше, чем на L1 стадии (3,6 % и 3,3 % суммы ЖК общих липидов, соответственно), и продолжает увеличиваться (до 20,5 и 16,9 % суммы ЖК общих липидов) в процессе развития люмпена – в то время как уровень 18:1(n-9) ЖК (11,9 % суммы ЖК) у личинок стадии L1 выше, чем у молоди люмпена старшего возраста (5,9–7,5 % суммы ЖК), что может быть связано с ее поступлением в составе фитопланктона при питании. Отличительной особенностью ЖК состава мышц молоди люмпена в раннем постэмбриональном развитии является значительное повышение содержания МНЖК (за счет 20:1(n-9) и 22:1(n-11) ЖК) со стадии развития L2 в составе ТАГ (от 34,6 до 63,0 % суммы ЖК) по сравнению с ФЛ.

Для детального изучения пищевых взаимоотношений между организмами используется современный метод биохимических (трофических) биомаркеров, который основан на специфичности состава ЖК кормовых объектов гидробионтов (микроорганизмов, водорослей, зоопланктона, водных насекомых) и на их ограниченной способности к биосинтезу ЖК, значительную часть которых они получают из пищи (Светашев, 1997; Dalsgaard et al., 2003; Жукова, 2009). Известно, что высокая концентрация 22:6(n-3), 18:1(n-9), 18:4(n-3), 18:5(n-3) ЖК в динофитовых водорослях считается для них биомаркерной (Reuss, Poulsen, 2002; Хардин, Морозова, 2003; Жукова, 2009), а 20:5(n-3), 16:1(n-7) – для диатомовых (Dalsgaard et al., 2003; Жукова, 2009). При этом высокий уровень ДГК является биомаркерным только для динофлагеллят (Dalsgaard et al., 2003; Жукова, 2009). Как было указано выше, самая высокая концентрация ДГК показана в мышцах молоди L1 стадии развития (24,0 % суммы ЖК). Более того, ЖК состав ТАГ в мышцах личинок люмпена стадии развития L1 по сравнению со стадией развития L2 показывает более высокий уровень ЖК фитопланктонного происхождения – 22:6(n-3), 20:5(n-3), 18:2(n-6), 18:3(n-3), 20:4(n-6) (таблица 6). Известно, что в период полярной ночи в толще воды преимущественно встречаются гетеротрофные динофлагелляты (Wiktor, 1999), которые выступают основными объектами питания личинок люмпена L1 стадии развития.

Биология и развитие полярных рыб и зоопланктона неразрывно связаны друг с другом. Веслоногие ракообразные – копеподы рода *Calanus* являются основным

высокоэнергетическим источником питания личинок пелагических рыб в Арктике, в том числе люмпена пятнистого. Известно, что только калянусы синтезируют *de novo* 20:1(n-9) и 22:1(n-11) ЖК, поэтому эти ЖК считаются для них биомаркерными (Kattner, Hagen, 1995). В арктических экосистемах, в том числе и в точке сбора проб люмпена для данной работы, преобладают *Calanus glacialis* и *C. finmarchicus*, отличающиеся высоким уровнем 20:1(n-9) и 22:1(n-11) ЖК (от 20 – 40 % суммы ЖК в составе восков) (Lee et al., 2006), что было показано и в наших исследованиях (Мурзина и др., 2014). При сравнительном анализе содержания этих ЖК у молоди рыб наиболее высокое содержание показано для обитающих в Арктике люмпена пятнистого *L. maculatus* (12,2 и 11,3 % суммы ЖК общих липидов, соответственно) и для полярной трески *Boreogadus saida* (9,5 и 7,6 %) (Gracham et al., 2014), что связано с их питанием калянусами. В меньшем количестве 20:1(n-9) и 22:1(n-11) ЖК содержались у молоди субарктических видов рыб – колюшки трехиглой *Gasterosteus aculeatus* L (5,3 и 5,1 % суммы ЖК соответственно) и беломорской сельди *Clupea pallasii marisalbi* Berg (1,8 и 0,2 %) (Немова и др., 2015; Мурзина и др., 2017). У пелагических личинок антарктической серебрянки *Pleurogramma antarcticum* уровень 20:1(n-9) и 22:1(n-11) ЖК – низкий (<2 % суммы ЖК) как в составе ФЛ, так и ТАГ (Giraldo et al., 2016).

Повышение содержания 20:1(n-9) и 22:1(n-11) ЖК установлено среди МНЖК в ТАГ мышц молоди люмпена с L2 стадии развития (от 7,9 до 22,3; от 8,6 до 23,0 % суммы ЖК, соответственно). Кроме того, содержание 20:1(n-9) и 22:1(n-11) ЖК повышается в составе ФЛ с L2 стадии (от 1,0 до 6,2; от 0,6 до 1,6 %, соответственно). Преобладание в ТАГ 20:1(n-9) и 22:1(n-11) ЖК было показано и для других арктических рыб, таких как *Maurolicus muelleri* и *Benthosema glaciale* (Falk-Petersen et al., 1986b), что указывает на активное питание личинок рыб в Арктике калянусами. Высокое содержание 18:1(n-9) ЖК как в ТАГ, так и в ФЛ (10,2 % и 11,8 % суммы ЖК, соответственно) у личинок люмпена L1 (по сравнению с таковым у старших особей) может указывать на их питание на данной стадии динофитовыми водорослями в составе фитопланктона. Высокое содержание 18:1(n-9) (13–15 % суммы ЖК) установлено нами ранее и для личинок фитопланктонофага – беломорской сельди (Немова и др., 2015). Отмечена динамика увеличения уровня 16:1(n-7) ЖК в мышцах люмпена от L1 к L5 стадии развития (от 2,88 до 5,22 % суммы ЖК общих липидов). В липидном мешке ее уровень сохранялся в пределах 6–7 % суммы ЖК. Известно, что 16:1(n-7) ЖК, поступающая в организм личинок рыб с пищей, используется в большей степени как источник энергии и поэтому накапливается в ТАГ липидного мешка и в мышцах (Kopprio et al., 2015).

В липидном мешке люмпена на всех исследованных стадиях преобладают МНЖК (от 68,5 до 72,7 % суммы ЖК общих липидов), уровень которых был в 4–4,5 раза выше содержания ПНЖК (до 16,51 %) и НЖК (15–16 %). Известно, что МНЖК используются, как правило, в качестве источников энергии в процессе липолиза рыб и входят в состав ТАГ (Lloret et al., 2014). Наблюдается сходное соотношение в содержании групп ЖК в составе ТАГ липидного мешка и мышц молоди люмпена пятнистого на стадиях развития L3, L4, L4*: значительно преобладают МНЖК (60–70 % суммы ЖК), в меньшем количестве представлены

НЖК и ПНЖК, при этом содержание НЖК выше. Установлено повышение уровня МНЖК в липидном мешке к L4* стадии развития. Наибольший вклад в общий уровень МНЖК в мышцах и в липидном мешке молоди люмпена вносят 20:1(n-9) и 22:1(n-11) ЖК. Их уровень в составе ОЛ липидного мешка L3, L4, L4* стадий развития в зимний сезон остается одинаково постоянным (27–28 % суммы ЖК). Следует отметить, что эти ЖК включаются в большем количестве в состав липидного мешка (в ТАГ) личинок люмпена L3, L4, L4* стадий по сравнению с мышцами, что подтверждает их поступление при питании (зоопланктоном рода *Calanus*).

Наблюдается динамика уменьшения содержания НЖК в ОЛ мышц от L1 к L5 стадии (от 29,4 до 16,1 % суммы ЖК). В липидном мешке уровень НЖК остается относительно постоянным на всех стадиях развития (15-16 %), что характерно и для доминирующих 14:0 и 16:0 ЖК (6-7 %). При этом в мышцах уровень 16:0 ЖК снижается от L1 к L5 стадии (от 17,63 до 8,95 % суммы ЖК), а 14:0 – варьирует в пределах 2–4 % суммы ЖК. Согласно данным литературы, 16:0 ЖК принадлежит ключевая роль в метаболизме НЖК у рыб (Asman, Eaton, 1966; Сидоров, 1983). Для личинок беломорской сельди установлено преобладание НЖК (55-60 % суммы ЖК), также в основном за счет 16:0 (26–30 %) (Немова и др., 2015).

Таким образом, значительные изменения в ЖК составе липидов молоди люмпена к стадии развития L2 – понижение содержания 22:6(n-3) и 18:1(n-9) ЖК и значительное повышение – 20:1(n-9) и 22:1(n-11) ЖК, связаны со сменой типа питания личинок люмпена – переходом с питания фитопланктоном на активное питание зоопланктоном рода *Calanus*.

Еще одна смена типа питания, как установлено в работе, происходит у взрослой особи люмпена пятнистого, ведущей придонный образ жизни. На это указывают значительные изменения ЖК состава общих липидов мышц. При анализе ЖК спектра взрослых особей люмпена зимой установлено, что в мышцах доминируют МНЖК (46,8 % суммы ЖК), в меньшем количестве содержатся ПНЖК (31,1 %) и НЖК (22,0 %). Среди МНЖК в количественном отношении преобладают 16:1(n-7) (11,5 % суммы ЖК), 18:1(n-9) (16,1 %), 18:1(n-7) (6,9 %) жирные кислоты. При этом содержание 20:1(n-9) и 22:1(n-11) ЖК – низкое 2,9 и 2,2 % суммы ЖК. Среди ПНЖК уровень ЖК n-3 семейства (22,4 % суммы ЖК) выше, чем ЖК n-6 семейства (4,1% суммы ЖК). Среди ЖК n-3 семейства в большем количестве содержатся ЭПК (9,5 %) и ДГК (8,9 % суммы ЖК), а среди ЖК n-6 семейства – 18:2(n-6) (0,8 %) и 20:4(n-6) ЖК (1,5 %). В спектре НЖК преобладала 16:0 ЖК (12,9 % суммы ЖК). Известно, что взрослые особи люмпена питаются преимущественно донными видами беспозвоночных (декаподами, полихетами), для которых показан высокий уровень этих МНЖК, поступающих по пищевой цепи от бактерий и фитопланктона (Sargent, Falk-Petersen, 1981).

Проведен дискриминантный анализ содержания 14:0, 16:0, 18:0, 16:1(n-7), 18:1(n-9), 20:1(n-9), 22:1(n-11), 18:2(n-6), 20:4(n-6), 18:3(n-3), 20:5(n-3), 22:5(n-3), 22:6(n-3) ЖК в мышцах и в липидном мешке (рисунок 2 А, Б), на основе которого подтверждено разделение молоди *L. maculatus* на фенотипические группировки (пелагическую, «переходную» и придонную). Дискриминантный анализ содержания ЖК мышц позволил с 95 % точностью разделить разновозрастную

молодь люмпена на группировки по данным физиологически значимых ЖК (рисунок 2А). Первая каноническая ось (дискриминантная функция 1) определяет 57 % общей изменчивости показателей ($\lambda=0,0002$; $p=0,0000$) и сформирована 22:5(n-3), 20:5(n-3) и 14:0 ЖК. Вторая ось (дискриминантная функция 2) – 35 % общей изменчивости ($\lambda=0,02$; $p=0,0000$) и сформирована 22:6(n-3), 22:1(n-11), 18:0 ЖК. В пространстве этих осей четко выделяется группа личинок L1 стадии развития, пелагическая молодь (L2, L3) и переходная или придонная молодь (стадий развития L4, L4* и L5). Полученные данные отражают онтогенетические особенности питания молоди люмпена в зависимости от зоны ее обитания в толще воды.

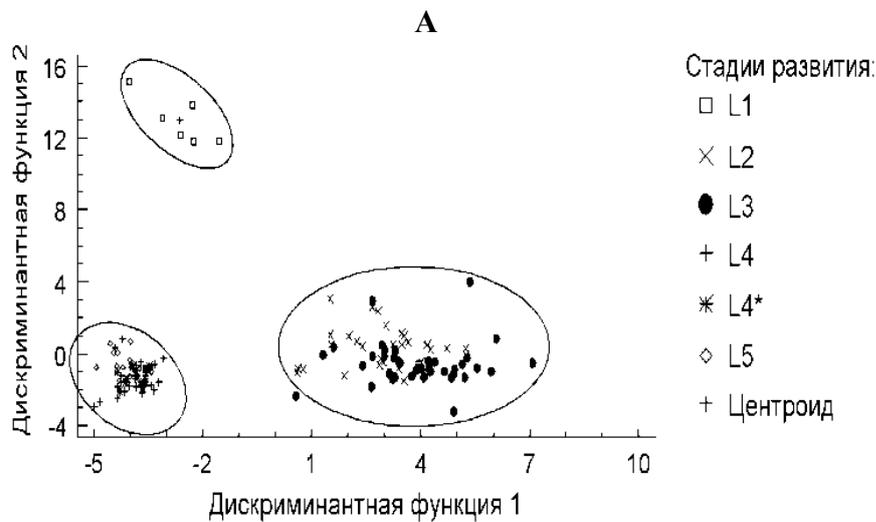
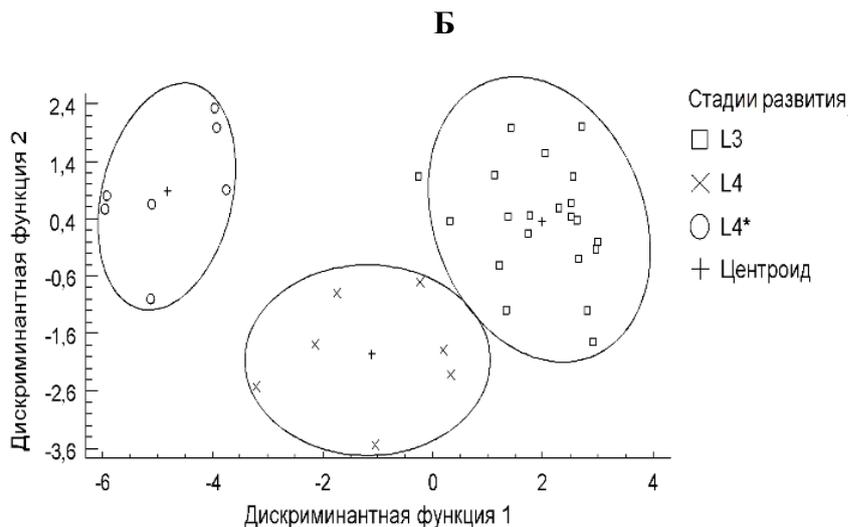


Рисунок 2. Дискриминантный анализ содержания жирных кислот в мышцах (А) в липидном мешке (Б) молоди люмпена пятнистого разных стадий постэмбрионального развития (L1–L5) в пространстве главных дискриминантных функций



Анализ ЖК состава липидного мешка люмпена характеризовался 95 % точностью. Первая каноническая ось (дискриминантная функция 1) определяет 88 % общей изменчивости ($\lambda=0,05$; $p=0,0000$) и составлена 18:3(n-3), 20:5(n-3), 14:0 ЖК. Эти показатели позволяют выделить группу личинок переходной L4* стадии,

липидный мешок которой имеет наиболее крупные размеры (рисунок 2Б). Вторая ось (дискриминантная функция 2) забирает на себя 12 % общей изменчивости ($\lambda=0,48$; $p=0,08$) и определена 18:1(n-9), 18:2(n-6), 16:0 ЖК. Выделение стадии L4 отражает развитие адаптивных процессов на уровне энергетического метаболизма, связанных с миграциями особей в более глубокие слои воды. Данный анализ позволяет подтвердить разделение стадий L4 и L4* не только на основе ихтиологических, но и биохимических данных.

Заключение

Люмпен пятнистый *Leptoclinus maculatus* – экологически важный представитель ихтиофауны Арктики, для которого характерно длительное развитие молоди в пелагиали с последующим превращением в бентосную особь со сменой зоны обитания и типа питания. Исследования липидного статуса люмпена пятнистого в процессе его постэмбрионального развития в условиях зимы и полярной ночи проведены впервые. Полученные результаты позволили выявить особенности динамики содержания структурных и энергетических липидов, а также их жирнокислотных компонентов в мышцах и в липидном мешке, определить особенности питания молоди люмпена, выделить ее фенотипические группировки на этом ключевом этапе онтогенеза, определяющем последующий рост и развитие рыб.

Наряду с общими чертами липидного и жирнокислотного состава, характерными для рыб высоких широт, в частности, высоким уровнем длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот n-3 семейства – докозагексаеновой и эйкозапентаеновой, у люмпена пятнистого выявлены специфические особенности – высокое содержание моноеновых жирных кислот в липидном мешке и в мышцах молоди старших возрастных групп. Среди жирных кислот этого типа в составе запасных липидов у исследуемых рыб доминируют 20:1(n-9), 22:1(n-11), являющиеся биомаркерами для представителей зоопланктона рода *Calanus*. В процессе постэмбрионального развития дважды происходит смена типа питания люмпена пятнистого, о чем свидетельствуют существенные изменения жирнокислотного состава. Так, высокий уровень 22:6(n-3), 18:1(n-9) жирных кислот на стадии L1, по сравнению с другими стадиями развития молоди люмпена, указывает на питание динофитовыми водорослями в составе фитопланктона, высокое содержание биомаркерных 22:1(n-11), 20:1(n-9) жирных кислот со стадии L2 – на начало активного питания зоопланктоном рода *Calanus*, а преобладание более короткоцепочечных моноеновых 18:1(n-9), 18:1(n-7), 16:1(n-7) жирных кислот у взрослой рыбы – на питание беспозвоночными бентоса.

В работе продемонстрирована еще одна важная особенность физиологии люмпена – накопление энергетических липидов в липидном мешке в процессе роста и развития личинок в пелагиали, что необходимо для обеспечения энергией процессов их жизнедеятельности при низких температурах и недостатке питания,

а также для поддержания плавучести пелагических личинок. Высокое содержание 20:1(n-9) и 22:1(n-11) жирных кислот в запасных липидах липидного мешка у личинок люмпена подтверждает вывод о том, что они имеют пищевое происхождение.

Таким образом, впервые получены данные о липидном статусе молоди люмпена пятнистого в постэмбриональном развитии в условиях полярной ночи, которые расширяют имеющиеся к настоящему времени представления о липидном и жирнокислотном составе, об особенностях питания и биохимических адаптаций рыб северных широт. Полученные данные позволяют проследить пути трансформации и перемещения жирных кислот по звеньям трофической цепи в арктической экосистеме.

Выводы

1. Развитие молоди люмпена пятнистого от личинки стадии развития L1 до ювенильной особи стадии развития L5 сопровождается значительным повышением уровня триацилглицеринов в мышцах. Со стадии развития L1 в брюшной полости формируется липидный мешок, в котором у личинок люмпена на стадиях L3–L4 депонируется около 13 % липидов тела.
2. В составе фосфолипидов мышц у молоди люмпена доминирует фосфатидилхолин (67–75 % суммы фосфолипидов), в меньших количествах присутствуют фосфатидилэтаноламин (19–25 %), фосфатидилсерин (1,5–3,5 %), фосфатидилинозитол (1,5–3,8 %), лизофосфатидилхолин (0,3–1,1 %) и сфингомиелин (1,2–1,8 %). Количественное соотношение фосфолипидных классов в мышцах в ходе развития молоди люмпена (стадии L1–L5) достоверно не изменяется. В составе фосфолипидов липидного мешка на стадии L4* возрастает доля холин-содержащих фосфолипидов (фосфатидилхолина и его лизоформы, а также сфингомиелина), что, возможно, связано с началом резорбции липидного мешка.
3. В составе жирных кислот фосфолипидов и триацилглицеринов молоди люмпена и взрослой рыбы идентифицировано около 40 жирных кислот различной структуры. Установлено, что в процессе развития люмпена уровень полиненасыщенных жирных кислот, главным образом n-3 семейства, снижается, а содержание мононенасыщенных жирных кислот повышается.
4. Жирнокислотный спектр триацилглицеринов и фосфолипидов в постэмбриональном развитии люмпена пятнистого претерпевает значительные изменения, которые отражают смену типа его питания. Высокий уровень 22:6(n-3), 18:1(n-9) жирных кислот липидов мышц на стадии развития L1 люмпена указывает на питание динофитовыми водорослями в составе фитопланктона. Рост содержания 20:1(n-9), 22:1(n-11) жирных кислот со стадии развития L2 свидетельствует о начале активного питания зоопланктоном рода *Calanus*, что подтверждается высоким уровнем этих жирных кислот в составе триацилглицеринов липидного мешка. Преобладание более короткоцепочечных

моноеновых (18:1(n-9), 18:1(n-7), 16:1(n-7)) жирных кислот у взрослой рыбы связано с питанием беспозвоночными бентоса.

5. Различия в содержании физиологически значимых жирных кислот как в мышцах, так и в липидном мешке молоди люмпена подтверждают наличие ее фенотипической разнокачественности (разделение на пелагическую, «переходную», придонную формы).
6. Люмпен пятнистый обладает типичными чертами липидного состава морских холодноводных рыб – высоким содержанием нейтральных липидов, длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот n-3 семейства. Изменения липидного состава в постэмбриональном развитии люмпена, связанные, главным образом, со сменой образа жизни и типа питания, обеспечивают успешную адаптацию этого вида к росту и развитию в условиях Арктики.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

Статьи:

1. Немова Н.Н., Мурзина С.А., Нефедова З.А., **Пеккоева С.Н.**, Рипатти П.О. Липидный статус молоди и взрослых особей беломорской сельди *Clupea pallasii marisalbi* Berg (Clupeiformes, Clupeidae) // Доклады Академии наук. Биохимия, биофизика. Молекулярная биология. 2015. Т. 460. № 4. С. 475–479.
2. **Пеккоева С.Н.**, Мурзина С.А., Нефедова З.А., Рипатти П.О., Falk-Petersen S., Berge J., Lønne O., Немова Н.Н. Экологическая роль липидов и жирных кислот в раннем постэмбриональном развитии люмпена пятнистого *Leptoclinus maculatus* (Fries, 1838) из Конгсфьорда (о. Западный Шпицберген) в зимний период // Экология. 2017. № 3. С. 186–191.
3. **Пеккоева С.Н.**, Мурзина С.А., Нефедова З.А., Руоколайнен Т.Р., Falk-Petersen S., Berge J., Lønne O.J., Немова Н.Н. Роль фосфолипидов в развитии молоди арктическо-бореального вида *Leptoclinus maculatus* (Stichaeidae) // Вопросы ихтиологии. 2017. Т. 57. № 4. С. 467–471.
4. **Пеккоева С.Н.**, Мурзина С.А., Иешко Е.П., Нефедова З.А., Falk-Petersen S., Berge J., Lønne O., Немова Н.Н. Экологические группы арктическо-бореального вида люмпена пятнистого *Leptoclinus maculatus* (Fries, 1838) в процессах роста и раннего развития // Экология. 2018. № 3. С. 135–142.
5. Murzina S.A., Nefedova Z.A., Falk-Petersen S., Ripatti P.O., Ruokolainen T.R., **Pekkoeva S.N.**, Nemova N.N. Lipid Status of the Two High Latitude Fish Species, *Leptoclinus maculatus* and *Lumpenus fabricii* // International Journal of Molecular Sciences. 2013. N 14. P. 7048–7060.

По теме диссертации опубликовано 22 тезиса и материалов докладов, основные из них:

1. **Пеккоева С.Н.**, Мурзина С.А., Нефедова З.А., Falk-Petersen S., Lønne O., Berge J., Рипатти П.О., Немова Н.Н. Особенности жирнокислотного состава молоди люмпена

- пятнистого *Leptoclinus maculatus* (Fries, 1838) в условиях Арктики // Липидология – наука XXI века: Материалы конф. Казань: ИП Синяев Д.Н., 2014. С. 76–80.
2. **Пеккоева С.Н.**, Мурзина С.А., Нефедова З.А., Falk-Petersen S., Немова Н.Н. Особенности липидного и жирнокислотного спектра молоди *L. maculatus* в условиях полярной ночи в Конгсфьорде, Шпицберген // Комплексные исследования природы Шпицбергена и прилегающего шельфа: Материалы конф. Мурманск, 2014. Вып. 12. С. 243–248.
 3. **Pečkoeva S.N.**, Murzina S.A., Falk-Petersen S., Nefedova Z.A., Ripatti P.O., Nemova N.N. Role of lipids in postlarval development of the Arctic fish *Leptoclinus maculatus* during polar night in Svalbard // Abstract. ICBF. Edinburg, 2014. P. 182.
 4. **Pečkoeva S.N.**, Murzina S.A., Nefedova Z.A., Ripatti P.O., Ruokolainen T.R., Falk-Petersen S., Nemova N.N. Physiological and ecological importance of lipids and fatty acids of the daubed shanny postlarvae (*Leptoclinus maculatus*, family *Stichaeidae*) during polar night in Svalbard // Arctic Change 2014. Abstracts. Ottawa, 2014. P. 149–150.
 5. **Pečkoeva S.N.**, Murzina S.A., Nefedova Z.A., Ripatti P.O., Ruokolainen T.R., Falk-Petersen S., Nemova N.N. Specific lipid spectrum of postlarvae (stage1–stage5) of the daubed shanny *L. maculatus* during polar night in Kongsfjord // Arctic Frontiers - 2015. 2015. P. 163.
 6. **Pečkoeva S.N.**, Murzina S.A., Nefedova Z.A., Ripatti P.O., Falk-Petersen S., Berge J., Nemova N.N. Lipids and fatty acids in early life history of the marine fish *L. maculatus* in the Arctic winter // 39th Annual larval fish conference. Vena, 2015. P. 135.
 7. **Пеккоева С.Н.**, Мурзина С.А., Нефедова З.А., Руоколайнен Т.Р., Рипатти П.О., Falk-Petersen S., Lønne O., Berge J., Немова Н.Н. Динамика липидного и жирнокислотного состава в раннем постэмбриональном развитии люмпена пятнистого *Leptoclinus maculatus* из Конгсфьорда (о. Шпицберген) в полярную ночь // Функционирование и динамика водных экосистем в условиях климатических изменений и антропогенных воздействий: Материалы конф. СПб.: Издательство «ЛЕНА», 2015. С. 197.
 8. **Пеккоева С.Н.**, Мурзина С.А., Нефедова З.А., Руоколайнен Т.Р., Falk-Petersen S., Berge J., Lønne O. J., Немова Н.Н. Роль фосфолипидов в биохимических адаптациях молоди приполярной рыбы *L. maculatus* в условиях высоких широт // Сборник тезисов XXVIII Зимней молодежной научной школы «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии» (г. Москва, 8-11 февраля). 2016. С. 91.
 9. **Пеккоева С.Н.**, Мурзина С.А., Нефедова З.А., Рипатти П.О., Falk-Petersen S., Berge J., Lønne O. J., Немова Н. Н. Физиолого-биохимические механизмы адаптации в раннем онтогенезе *Leptoclinus maculatus* в Арктике, на примере липидного состава // 15 Всероссийское Собрание с международным участием и 8 Школа по эволюционной физиологии. Сборник материалов. СПб.: ВВМ, 2016. С. 191–192.
 10. **Pečkoeva S.N.**, Murzina S.A., Ieshko E.P., Nefedova Z.A., Falk-Petersen S., Berge J., Lønne O.J., Nemova N.N. Effect of ecological factors on growth and development of the daubed shanny *Leptoclinus maculatus* postlarvae from Kongsfjord and Billefjord // Annual meeting SEB Gothenburg 2017. Abstract book. Gothenburg, 2017. P. 279.
 11. **Пеккоева С.Н.**, Мурзина С.А., Иешко Е.П., Нефедова З.А., Руоколайнен Т.Р., Falk-Petersen S., Berge J., Lønne O.J., Немова Н.Н. Влияние экологических факторов на рост молоди *L. maculatus* в Арктике: Материалы конф. «Живая природа Арктики: сохранение биоразнообразия, оценка состояния экосистем» (г. Архангельск, 30 октября – 3 ноября 2017 г.). 2017. С. 206–208.