

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ КАРЕЛЬСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ИБ КарНЦ РАН)

На правах рукописи

ПЕККОЕВА Светлана Николаевна

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД

по результатам научно-квалификационной работы (диссертации)

тема: **ЛИПИДЫ И ИХ ЖИРНОКИСЛОТНЫЕ КОМПОНЕНТЫ В
РАННЕМ РАЗВИТИИ ЛЮМПЕНА ПЯТНИСТОГО *LEPTOCLINUS
MACULATUS* (FRIES, 1838) (КОНГСФЬОРД, АРХ. ШПИЦБЕРГЕН),**

выполненной в соответствии с требованиями
Федерального государственного образовательного стандарта высшего
образования по направлению 06.06.01. Биологические науки
(уровень подготовки кадров высшей квалификации)

Научный руководитель:
доктор биологических
наук, профессор, член-
корреспондент РАН
Н.Н.Немова

Петрозаводск – 2017

Введение

Актуальность темы. Липиды и жирные кислоты являются одними из важнейших полифункциональных макромолекул, выполняют незаменимую роль во многих метаболических процессах организма, на всех этапах его развития, а их уровень изменяется в зависимости от условий среды и физиологического состояния особи. Эти макромолекулы особенно важны в раннем онтогенезе и репродуктивных процессах рыб: влияют на созревание и качество икры, сроки икрометания, рост, развитие и определяют выживаемость молоди (Лапин, Шатуновский, 1981; 1985; Озернюк, 1985, 2000; Rainuzzo et al., 1997; Новиков, 2000; Мурзина и др., 2009; Sahu et al., 2009; Tocher, 2010; Немова и др., 2014; Lloret et al., 2014; Эколого-биохимический статус., 2016). Утилизация тех или иных липидов в процессе эмбриогенеза и раннего индивидуального развития значительно варьирует у разных видов рыб.

Липиды и их жирнокислотные компоненты выступают важными источниками энергии и структурных веществ, являются биоэффекторами, регулируя внутриклеточные реакции и межклеточные взаимодействия, различные физиолого-биохимические процессы (Крепс, 1981; Сидоров, 1983; Болдырев и др., 2006; Перевозчиков, 2008), и поэтому могут выступать как биохимические маркеры в оценке функционального состояния рыб, в том числе в природных популяциях. Липиды считаются незаменимыми компонентами в реализации целого комплекса адаптационных механизмов, направленных на запуск компенсаторных реакций клетки (Хочачка, Сомеро, 1988; Hochachka, Somero, 2002), поэтому изменения липидного статуса в процессе индивидуального развития организмов могут отражать состояние популяций животных, особенно гидробионтов – эктотермных организмов, развитие которых происходит в постоянно меняющихся условиях среды. Рыбы, как известно, характеризуются большим разнообразием условий и способов размножения, типов раннего развития, обусловленных комплексом экологических и эволюционных факторов (Крыжановский, 1953; Лапин,

Шатуновский, 1981; Крепс, 1981; Расс, 1983; Шатуновский, 2001; Микулин, Котенев, 2007; Павлов, 2007; Нельсон, 2009; Макеева и др., 2011). В связи с этим, изучение биохимических адаптаций в раннем развитии рыб, характеризующихся высокой экологической пластичностью, представляет особый интерес. Изучение особенностей отдельных периодов онтогенеза данной группы животных может составлять основу для анализа и решения проблем биологии развития (Крыжановский, 1948; Никольский, 1963; Павлов, 2007; Озернюк, 2011).

Исследуемый в работе объект - люмпен пятнистый *Leptoclinus maculatus* (Fries, 1838) из семейства Стихеевые (отряд Окунеобразные), довольно широко распространен в морских экосистемах Арктики и Северной Атлантики (вплоть до 79°с.ш.) (Андрियाшев, 1954; Mecklenburg, Sheiko, 2004; 2011) и адаптирован к жизни в аркто-бореальной зоне (Falk-Petersen et al., 1990; Murzina et al., 2008; Мурзина, 2010; 2012; 2013a; 2013b). Раннее постэмбриональное развитие люмпена пятнистого проходит в пелагиали в специфических арктических условиях – низкая температура (ниже 0°C), фотопериод (полярный день, ночь), влияние течений и разных водных масс, опреснение воды за счет таяния льда, ледников (особенно летом), ограниченные кормовые возможности и др. Люмпен пятнистый отличается сложным жизненным циклом, включающим длительное развитие молоди в пелагиали с последующей миграцией в придонные слои воды, сопровождающейся переходом в группу бентосных видов, т.е. сменой образа жизни и типа питания (Meyer Ottesen et al., 2011). Уникальной особенностью молоди является наличие т.н. провизорного органа – липидного мешка, который состоит из крупных липидных капель и характерен для рыб семейства Стихеевые, в том числе люмпена пятнистого (Falk-Petersen et al., 1986; Murzina et al., 2008; Мурзина, 2010; Мурзина и др., 2010; Meyer Ottesen et al., 2011). Следует отметить, что к настоящему времени вопросы о содержании и роли липидов и их жирнокислотных компонентов в раннем развитии люмпена все еще малоизучены. В литературе практически

отсутствует информация об эмбриогенезе, размножении и нересте *L. maculatus*, отрывочны сведения о динамике роста и энергетических затратах в процессе развития, потреблении кислорода, а также влиянии факторов среды на данные процессы у арктических видов рыб.

Исследование содержания липидов и жирных кислот у молоди люмпена пятнистого разных стадий развития в зимний период в условиях Арктики поможет раскрыть экологическую и физиологическую роль этих веществ в раннем онтогенезе рыб, а также дополнит сведения о сезонных особенностях накопления и расходования липидов в условиях специфических биотических и абиотических факторов высоких широт. Изучение онтогенетических аспектов фенотипической дифференцировки молоди люмпена пятнистого позволит оценить его приспособительные возможности и определить степень влияния экологических факторов на рост и реализацию механизмов адаптации в раннем онтогенезе рыб высоких широт.

Цель исследования: изучить содержание липидов и их жирнокислотных компонентов у молоди люмпена пятнистого *Leptoclonus maculatus* (Fries, 1838) в мышцах и в липидном мешке на разных стадиях развития (стадии L1 - L5) в зимний сезон в условиях Арктики.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать качественный и количественный состав общих липидов и липидных классов (фосфолипиды, холестерин, триацилглицерины, эфиры холестерина со следами восков) в мышцах (тушке) молоди люмпена пятнистого L1, L2, L3, L4, L4*, L5 стадий и в липидном мешке L3, L4, L4* стадий;
2. Определить содержание отдельных фосфолипидных классов (фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина, фосфатидилсерина, фосфатидилинозитола, лизофосфатидилхолина, сфингомиелина) в мышцах молоди люмпена пятнистого L1, L2, L3, L4, L4*, L5 стадий

- индивидуального развития и в липидном мешке L3, L4, L4* стадий развития;
3. Исследовать жирнокислотный спектр общих липидов в мышцах и в липидном мешке молоди люмпена соответствующих стадий развития;
 4. Проанализировать особенности динамики липидов и жирных кислот у молоди люмпена пятнистого в зимний сезон, уделяя особое внимание эколого-биохимической и физиологической роли этих веществ в процессах раннего онтогенеза исследуемого вида в условиях Арктики;
 5. Изучить рост молоди рыб, обитающих в Арктике, на примере люмпена пятнистого из Конгсфьорда в зимний период.

Научная новизна. Впервые изучено содержание общих липидов и их отдельных классов, в том числе фосфолипидов и их классов, а также жирных кислот суммарных липидов молоди люмпена пятнистого *Leptoclonus maculatus* (Fries, 1838) из Конгсфьорда на разных стадиях развития в мышцах и в липидном мешке в зимний период. Показана динамика содержания отдельных липидов и жирных кислот в мышцах и в липидном мешке молоди люмпена пятнистого. Впервые изучена связь между питанием личинок люмпена в условиях полярной ночи и содержанием липидов и жирных кислот в их тканях и органах, ростом их тела. С использованием дискриминантного анализа жирнокислотного состава мышц и липидного мешка определены группировки молоди люмпена пятнистого (пелагическая, переходная и ведущая придонный образ жизни).

Личный вклад автора. Материал, включенный в научно-квалификационную работу, получен при непосредственном участии С.Н. Пеккоевой как на этапах сбора материала в научных экспедициях и проведения лабораторных экспериментов, так и при проведении статистического анализа полученных данных, при обсуждении, интерпретации и обобщении полученных результатов, подведении итогов

отдельных этапов работы, формулировке выводов, при написании научных публикаций.

Практическое значение работы. Результаты детального исследования состава и динамики липидов и жирных кислот у молоди люмпена пятнистого разных стадий развития (одного из ключевых видов арктических экосистем) помимо фундаментального значения для получения новых знаний о функциях липидов в физиолого-биохимических адаптациях и 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 (атлантической трески, полярной трески, камбалы), для которых личинки люмпена являются высокоэнергетическим источником питания. Пелагическая молодь – это «элемент» пищевой цепи, который обеспечивает существование и функционирование таких значимых микроэкосистем, как птичьи базары в Арктике (Weslawski et al., 2006). Кроме того, липиды и жирные кислоты могут выступать в качестве дополнительных биохимических индикаторов состояния рыб при мониторинге состояния популяции и окружающей водной среды. Использование биохимических показателей в качестве биоиндикаторов позволит обнаружить возможные отклонения в развитии рыб еще на ранних стадиях онтогенеза. Данные о роли и составе жирных кислот в питании рыб арктического региона в природных условиях, могут иметь значение при составлении кормов для аквариального выращивания рыб северных регионов, учитывая то, что в последнее время в области аквакультуры активно развивается направление культивирования холодноводных морских рыб (Журавлева, 1996; Svasand et al., 2004). Высокий уровень жирных кислот n-3 семейства у молоди люмпена позволяет рассматривать его в качестве потенциального объекта для поиска новых биологически активных веществ и лекарственных препаратов. Результаты

работы могут быть использованы для оценки приспособительных возможностей, при определении границ толерантности у гидробионтов северных широт в условиях изменения климата.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биологии Карельского научного центра Российской академии наук (ИБ КарНЦ РАН). Исследования проведены на базе лаборатории экологической биохимии с использованием научного оборудования центра коллективного пользования «Комплексные фундаментальные и прикладные исследования особенностей функционирования живых систем в условиях Севера» (ЦКП ИБ КарНЦ РАН).

Научный руководитель: главный научный сотрудник лаборатории экологической биохимии ИБ КарНЦ РАН, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН Немова Нина Николаевна.

Сведения об обзоре литературы

Анализ имеющихся в литературе сведений о липидном и жирнокислотном составе в онтогенезе рыб, его вариациях в зависимости от физиологического состояния организма и экологических условий свидетельствует о важной роли этих веществ в биохимических механизмах адаптации к росту и развитию рыб в специфических условиях северных широт.

Несмотря на то, что в литературе представлено достаточно много работ по изучению роли липидов и жирных кислот в раннем развитии рыб (Tocher et al., 1985; Bell et al., 1995; Rainuzzo et al., 1997; Bransden et al., 2004; Мурзина и др., 2009; Sahu et al., 2009; Koprpio et al., 2015; Nemova et al., 2015; Немова и др., 2015 а, б; Эколого-биохимический статус., 2016; Нефедова и др., 2017), следует отметить, что данные липидного состава мышц и липидного мешка у личинок люмпена пятнистого *Leptoclinus maculatus* (Fries, 1838), о роли липидов в биохимических адаптациях у этого вида

представлены только в наших работах и в статьях норвежских коллег (Falk-Petersen et al., 1986; Murzina et al., 2008; Мурзина, 2010; Пеккоева и др., 2017). В мировой литературе до сих пор мало сведений о содержании, динамике и роли липидов в эмбриональном и на отдельных этапах постэмбрионального развития люмпена пятнистого, в т.ч. это касается содержания запасных веществ в желтке, формирования и состава желточного мешка, энергетических затрат в процессе роста и развития, а также потребления кислорода, влияния факторов среды на характер этих процессов у арктических рыб. Аналогичных работ по детальному исследованию липидного и жирнокислотного состава мышц и липидного мешка всех стадий развития молоди люмпена пятнистого, изучению роста молоди люмпена из Конгсфьорда в зимний период ранее не проводилось.

Материалы и методы

Сбор проб проводили на научном судне «Helmer Hanssen» (The Arctic University of Norway (UiT), Tromsø) в акватории архипелага Шпицберген в Конгсфьорде (78°57"с.ш.11°56"в.д.) в ходе экспедиции «Marine Night field campaign 2014» в январе 2014 года.

Материалом для исследования послужили мышцы личинок люмпена пятнистого - L1 и L2 стадии развития, мышцы и липидный мешок отдельно у молоди люмпена L3, L4, L4* стадий развития, а также мышцы L5 стадии. Для L1 и L2 стадий извлечение липидного мешка было затруднительным, в виду его плохой сформированности и небольшого объёма, у L5 стадии липидный мешок находился в состоянии резорбции.

При проведении анализа липидов применяли традиционные методы липидологии. Ихтиологические исследования рыб осуществлены по общепринятой методике (Правдин, 1966; Мина, Клевезаль, 1976; Мина и др., 2005).

Экстракция липидов и анализ общих липидов. Мышцы (тушки) и липидные мешки исследуемых рыб фиксировали в 96% этаноле для дальнейшего биохимического анализа. Липиды экстрагировали по методу Дж. Фолча (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 фосфолипидов, триацилглицеринов, эфиров холестерина 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 гидросиламином (Walsh et al., 1965; Сидоров, 1972). Количественное определение холестерина 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 фосфолипидов проводили на жидкостном хроматографе «Стайер» (ООО «Аквилон», Россия). Детектирование анализируемых компонентов осуществляли на спектрофотометре по поглощению в ультрафиолетовом 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 жирных кислот разделяли на хроматографе «Хроматэк - Кристалл-5000.2» (Россия) с ДАЖ-2М (дозатор автоматический жидкостный).

Статистическая обработка данных. Результаты были обработаны с применением общепринятых методов вариационной статистики (Ивантер, Коросов, 2010). Различия считали достоверными при $p \leq 0.05$ (Коросов, Горбач, 2007).

Результаты исследования и их обсуждение

В научно-квалификационной работе установлено, что количество общих липидов у молоди люмпена пятнистого из Конгсфьорда в зимний период увеличивается с возрастом, как в мышцах (до 22,87% сухой массы), так и в липидном мешке (до 92,32% сухой массы). Для рыб северного полушария характерно накопление липидов, что является одним из механизмов биохимических адаптаций к низким температурам, и происходит, в том числе за счет снижения активности метаболических процессов (Лапин, Шатуновский, 1985; Озернюк, 1993, 2003; Карамушко, 2014). Для некоторых представителей рыб высоких широт показано, что содержание общих липидов увеличивается от личинки к ювильной особи, например, у арктической бентосемы *Benthosema glaciale* и мавролика Мюллера *Maurolicus muelleri* (Sabates et al., 2003) и сопряжено с приростом длины и массы тела, что также характерно и для личинок люмпена.

Показана динамика увеличения уровня триацилглицеринов – запасной группы липидов, в мышцах молоди люмпена от L1 к L5 стадии. Это соответствует общей тенденции усиления биосинтеза нейтральных липидов с возрастом рыбы, направленной на их накопление для обеспечения возрастания доли энергетического обмена в общем метаболизме (Шатуновский, 2009). В липидном мешке триацилглицерины доминировали на всех исследуемых стадиях развития. Устойчивое развитие личинок люмпена зимой во многом определяется успешностью нагула в летний и осенний период (качество, количество, доступность и агрегированность). Триацилглицерины выполняют не только энергетическую функцию, так как их структурные компоненты – жирные кислоты, могут использоваться для биосинтеза необходимых биологически активных веществ (Лапин, Шатуновский, 1981; Tocher, 2003).

Итак, основным трендом для личинок люмпена является использование липидов, запасенных в тканях и органах, прежде всего, для энергетических

нужд организма и поддержания метаболизма на должном уровне при недостатке пищи в полярную ночь и в переходный период от пелагического к придонному образу жизни. С другой стороны, известно, что функция липидного мешка у молоди люмпена пятнистого также направлена и на обеспечение плавучести рыбы. Накопление липидов в мышцах - один из основных 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). Следует отметить, что липидный мешок у молоди люмпена может рассматриваться как физиолого-анатомическая адаптация, структура которого обеспечивает особенности светопреломления в нем в условиях особого светового режима пелагиали, при этом происходит маскировка пелагических личинок от хищников.

В мышцах молоди люмпена на фоне возрастания жирности за счет энергетических липидов (триацилглицеринов, эфиров холестерина) заметно выражено снижение уровня структурных фосфолипидов с возрастом (от 9,11 до 4,64% сухой массы). Известно, что на ранних стадиях развития молодь как морских, так и пресноводных видов рыб еще не синтезирует фосфолипиды в достаточном количестве, которые особенно необходимы при быстром темпе морфогенеза, а получает их дополнительно при питании (Coutteau et al., 1997; Sargent et al., 2002). Поступление фосфолипидов с пищей и их включение в метаболические процессы, способствует повышению выживаемости, нормальному развитию, более быстрому росту, уменьшению деформаций скелета личинок люмпена (Kanazawa et al., 1983; Tocher et al., 2008; Cahu et al., 2009).

Уровень фосфолипидов в липидном мешке люмпена зимой значительно увеличивается от стадии L3 личинок к стадии L4* придонной молоди (от 0,84 до 31,0% сухой массы) по сравнению с мышцами, что объясняется, скорее всего, их участием в адаптациях, связанных со сменой образа жизни молоди люмпена с пелагического на придонный. Ранее было

показано, что липидный мешок в летний сезон в основном состоит из триацилглицеринов и минорных количеств фосфолипидов (Falk-Petersen et al., 1986; Мурзина, 2010; Мурзина и др., 2012). В настоящей работе впервые установлено, что в зимний период в составе липидного мешка содержится также небольшое количество других липидов: энергетических – эфиров холестерина и структурного холестерина, необходимых для обеспечения функционирования биомембраны липидного мешка у пелагической молодежи при низких температурах в полярную ночь.

Детальное исследование классов фосфолипидов молодежи люмпена показало высокий уровень фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина в мышцах, что является характерным для всех организмов, так как эти фосфолипиды составляют основу биомембран. В липидном мешке наблюдается с возрастом значительное увеличение уровня фосфатидилхолина и отмечены вариации минорных фосфолипидов, которые указывают на их особую роль при реализации компенсаторных механизмов адаптации на уровне биомембран, особенно в процессе перехода молодежи люмпена к придонному образу жизни. Изменения в содержании индивидуальных классов фосфолипидов к L4* - L5 стадии могут быть связаны с развитием адаптивного ответа при различии температур и солености придонных экосистем от пелагических в Конгсфьорде.

При исследовании жирнокислотного спектра установлено, что в мышцах пелагических личинок L1, L2, L3 стадий среди жирных кислот (ЖК) общих липидов в зимний период доминируют полиненасыщенные ЖК (ПНЖК), тогда как, у рыб старших возрастных групп (L4, L4*, L5 стадий), особенно тех которые начали переходить или ведут придонный образ жизни, преобладают мононенасыщенные ЖК (МНЖК) (до 53,09% суммы ЖК).

Среди ПНЖК в мышцах личинок люмпена существенно преобладают n-3 ЖК на всех стадиях развития люмпена, особенно эйкозапентаеновая кислота (ЭПК) и докозагексаеновая кислота (ДГК), которые являются незаменимыми для морских рыб высоких широт. Они поступают в больших

количествах при питании (Болгова, 1993; Sargent et al., 1995; Сущик, 2008) и важны для поддержания функционирования биомембран организма в условиях низких температур, роста, развития и репродуктивных процессов организма рыб (Sargent et al., 1995; Bogut et al., 2002; Kose and Yildiz, 2013).

Самая высокая концентрация ДГК, а также ЭПК показана в мышцах молоди L1 стадии. Эти ЖК вероятно поступают в организм личинок в составе фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина с фитопланктоном. ПНЖК важны для нормального соматического роста, развития нервной, зрительной системы (Parrish, 2009), поэтому особенно необходимы на ранних этапах развития личинки.

Наибольший вклад в общий уровень МНЖК в мышцах молоди люмпена в зимний период вносят 20:1(n-9) и 22:1(n-11) ЖК. Они поступают в организм личинок при питании зоопланктоном рода *Calanus*, который синтезирует их *de novo* (Sargent, Falk-Petersen, 1988; Kattner, Hagen, 1995; Lee et al., 2006; Graeve et al., 2008). Установлено, что содержание 20:1(n-9) и 22:1(n-11) ЖК на L2 стадии развития в мышцах достоверно выше такового на L1 стадии и в процессе роста и развития рыбы продолжает увеличиваться. А на L1 отмечен высокий уровень 18:1(n-9) ЖК, которая может поступать с динофитовыми водорослями (Falk-Petersen et al., 1990; Graeve et al., 2008) и участвует в термоадаптации биомембран (Farkas et al., 2001), что может быть особенно необходимо в холодных арктических водах. Это свидетельствует о питании личинок люмпена высокоэнергетическим зоопланктоном, вероятно, начиная с L2 стадии.

В липидном мешке в отличие от мышц люмпена на всех исследованных стадиях преобладают МНЖК (до 72,7% суммы ЖК), уровень которых был в несколько раз выше содержания ПНЖК и НЖК. Среди МНЖК в липидном мешке доминируют биомаркерные для калянусов 20:1(n-9) и 22:1(n-11) ЖК. Установлено, что их уровень остается одинаково постоянным (27-28% суммы ЖК) на всех трех стадиях. Среди ПНЖК в липидном мешке личинок

люмпена преобладают ЖК n-3, среди которых доминировали 18:3(n-4) и ЭПК, ДГК.

Дискриминантный анализ ЖК состава мышц молоди люмпена пятнистого разных стадий позволил выделить группировки молоди по содержанию 13 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).

В пространстве канонических осей четко выделяют 3 группировки: личинки (L1 стадии), питающиеся фитопланктоном, пелагическая молодь (L2, L3 стадий), которая начала питаться зоопланктоном и молодь люмпена старших возрастов (L4, L4* и L5 стадий), которая начала переходить или уже ведет придонный образ жизни и имеет в рационе питания другие более крупные объекты. Данный анализ ЖК позволяет разделить пелагическую L4 стадию от L4*, указывая, по-видимости, на то, что на данном этапе развития запускаются адаптивные процессы на уровне энергетического метаболизма, связанные с экологическими условиями при миграции особей в более глубокие слои воды.

Таким образом, анализ жирнокислотного спектра в мышцах и липидном мешке люмпена разного возраста позволяет выделить группировки рыб по вариациям отдельных ЖК, играющих в мышцах в большей степени физиологическую, а в липидном мешке – экологическую роль. Эти данные отражают особенности питания молоди люмпена в онтогенезе в зимний период.

Изучение динамики роста люмпена пятнистого из Конгсфьорда позволило установить заметно высокий прирост средней длины тела к L2 стадии (2,4 см). Это, вероятно, связано с переходом личинок на питание высокоэнергетической пищей – зоопланктоном, который содержит большую долю энергетических липидов, что способствует росту и развитию рыбы. Устойчивое увеличение линейных размеров у молоди люмпена в сравнении с предыдущей стадией указывает на успешную адаптацию данного вида к росту в Арктике.

Установлено, что липидный мешок формируется при переходе личинки люмпена на экзогенное питание и имеет длину на L2 стадии 1,63 см, что составляет 28% общей длины рыбы. Для каждой последующей личиночной стадии характерно увеличение длины мешка, которые максимальны на L4* стадии. Молодь люмпена этой стадии активно питается, как в пелагиали, так и у дна, что дает ей возможность, наряду с высокой мобильностью, накапливать липиды. У ювенильных особей (L5) происходит резорбция липидного мешка, средние размеры которого уменьшаются практически в два раза, что вызвано активным ростом, затратой энергии на поиск кормовых объектов, началом формирования гонад, а также отсутствием необходимости поддержания плавучести рыбы после перехода к группе бентосных видов.

В ходе изучения variability длины тела и липидного мешка установлено, что наиболее гетерогенной является возрастная группа люмпена L4 стадии, в которой выделяются медленно растущие и быстро растущие особи, из последних затем, вероятно, формируется группа особей L4* стадии. Рыбы данной группы растут быстро и при этом у них пропорционально увеличиваются размеры липидного мешка. Показано достоверное отличие у личинок L4 и L4* стадий, как по длине тела, так и по длине липидного мешка.

Выводы

1. Установлено, что уровень общих липидов и триацилглицеринов в мышцах и в липидном мешке у молоди люмпена повышается в процессе развития, а содержание фосфолипидов в мышцах понижается.
2. В составе суммарных липидов липидного мешка у молоди люмпена пятнистого на разных стадиях развития в зимний период обнаружены холестерин и эфиры холестерина, которые в летний период не идентифицируются.
3. Установлено, что в мышцах пелагических личинок (L1, L2, L3 стадий) среди жирных кислот общих липидов доминируют полиненасыщенные

жирные кислоты, тогда как у рыб старших возрастных групп (L4, L4*, L5 стадий), которые начали переходить или ведут придонный образ жизни, преобладают мононенасыщенные жирные кислоты. Наибольший вклад в общий уровень мононенасыщенных жирных кислот в мышцах и в липидном мешке молоди люмпена вносят 20:1(n-9) и 22:1(n-11) жирные кислоты.

4. Показано, что жирнокислотный спектр отражает особенности питания молоди люмпена в онтогенезе. На L1 стадии отмечено высокое содержание в мышцах 18:1(n-9), 22:6(n-3) жирных кислот, биомаркерных для динофитовых водорослей. Содержание 20:1(n-9) и 22:1(n-11) жирных кислот на L2 стадии развития в мышцах рыб выше по сравнению с L1 стадией и продолжает увеличиваться по мере роста и развития рыб. Динамика роста люмпена пятнистого свидетельствует о высоком приросте средней длины тела к L2 стадии.
5. Дискриминантный анализ 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) в мышцах и липидном мешке молоди люмпена позволил выделить фенотипические группировки (пелагическую, переходную, придонную).

Заключение

Исследования липидного статуса типичного представителя ихтиофауны Арктики - люмпена пятнистого в ходе раннего постэмбрионального развития показывают динамику накопления общих липидов и определенные вариации в содержании отдельных липидов и жирных кислот, как в мышцах, так и в уникальном для этого вида рыб образовании – липидном мешке, что указывает на участие этих веществ в биохимической адаптации, направленной на успешный рост и развитие организма в сложившихся экологических условиях Арктики.

Личинки люмпена пятнистого накапливают в процессе развития запасные липиды – триацилглицерины и мононенасыщенные жирные кислоты в липидном мешке и в мышцах. Фосфолипиды и полиненасыщенные жирные кислоты преобладают в мышцах на начальных стадиях развития люмпена и могут активно использоваться в процессах роста и дифференцировки тканей. Высокий уровень полиненасыщенных жирных кислот n-3 семейства, как в мышцах, так и в липидном мешке свидетельствует о важной роли этих кислот в жизнедеятельности организма в условиях морских арктических экосистем (низких температур, освещенности, трофического фактора и др.).

Жирнокислотный состав отражает особенности питания молоди люмпена пятнистого в онтогенезе. На L1 стадии отмечено высокое содержание в мышцах 18:1(n-9), 22:6(n-3) жирных кислот, биомаркерных для динофитовых водорослей. Содержание 20:1(n-9) и 22:1(n-11) жирных кислот выше в мышцах молоди люмпена на L2 стадии развития по сравнению с L1 стадией, что указывает на активное питание, начиная с L2 стадии, зоопланктоном рода *Calanus*, синтезирующим *de novo* эти жирные кислоты.

Липидный мешок молоди люмпена пятнистого можно рассматривать как физиолого-биохимическую адаптацию, способствующую жизни рыб в пелагиали и их успешному росту. Данный орган формируется с переходом личинок на экзогенное питание. Размеры липидного мешка и содержание в нем липидов достигают у молоди люмпена максимальных на L4* стадии развития, а затем уменьшаются в процессе резорбции на L5 стадии развития, связанной с затратами энергии на ростовые процессы и адаптацией к новому придонному образу жизни.

Последовательный линейный рост молоди люмпена пятнистого, обитающего в водах архипелага Шпицберген, указывает на хорошую приспособленность этого вида к специфическим условиям Арктики, в частности к обитанию в узких пределах сравнительно низких температур. Высокий прирост средней длины тела, отмеченный к L2 стадии, вероятно,

связан с переходом личинок на питание высокоэнергетической пищей – зоопланктоном.

Адаптивные возможности липидов и их жирнокислотных компонентов в формировании устойчивости к условиям среды на отдельных этапах онтогенеза люмпена пятнистого отражают пути направленного воздействия экологических факторов на метаболические процессы организма, способствующие фенотипической разнокачественности молоди люмпена.

Результаты, полученные впервые при изучении роста и развития молоди люмпена пятнистого в зимний период в Арктике, расширяют имеющиеся к настоящему времени, представления о специфике липидного и жирнокислотного статуса у этого вида в летний период. Они могут иметь не только фундаментальное значение для науки о липидах, но и могут использоваться в создании различных систем биомониторинга состояния ихтиофауны региона.

Таким образом, цель и поставленные задачи научно-квалификационной работы выполнены полностью. Планируется представление результатов выпускной научно-квалификационной работы (диссертации) к защите на соискание ученой степени кандидата наук. В дальнейшем будет продолжена работа по изучению липидного и жирнокислотного состава молоди и взрослых особей люмпена пятнистого в сравнительном и сезонном аспекте, а также механизмов и закономерностей функционирования организма рыб в условиях арктических морских экосистем.

Список публикаций, в которых изложены основные результаты научно-исследовательской работы

По материалам диссертации опубликовано 25 научных работ, из которых 4 статьи, 20 тезисов и материалов докладов и 1 статья принята к публикации.

Статьи

1. 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; doi:10.3390/ijms14047048 On-line: <http://www.mdpi.com/1422-0067/14/4/7048>
2. Немова Н.Н., Мурзина С.А., Нефедова З.А., Пеккоева С.Н., Рипатти П.О. Липидный статус молодежи 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.
3. Пеккоева С.Н., Мурзина С.А., Нефедова З.А., Рипатти П.О., Falk-Petersen S., Berge J., Lonne 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.
4. 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 молодежи арктическо-бореального вида *Leptoclinus maculatus* (Stichaeidae) // Вопросы ихтиологии. 2017. Т. 57. № 4. С. 467–471.
5. Пеккоева С.Н., Мурзина С.А., Иешко Е.П., Нефедова З.А., Falk-Petersen S., Berge J., Lonne O., Немова Н.Н. Экологические группы арктическо-бореального вида люмпена пятнистого *Leptoclinus maculatus* (Fries, 1838) в процессах роста и раннего развития // Экология. 2018. № 1.

Перечень всероссийских и международных конференций, на которых представлены основные результаты научно-исследовательской работы

Основные результаты научно-исследовательской работы были представлены в виде 7 устных и 7 стендовых докладов на международных, всероссийских конгрессах, конференциях и семинарах: 11-й Международный конгресс «International Congress on the Biology of Fish» (Эдинбург, 2014); Международная конференция «Комплексные исследования природы Шпицбергена и прилегающего шельфа» (Мурманск, 2014); II Всероссийская научная Интернет – конференция с международным участием «Липидология – наука XXI века» (Казань, 2014); Международная конференция «Arctic Change 2014» (Оттава, 2014); 9-я Международная конференция «Arctic Frontiers 2015 - Climate & Energy» (Tromsø, 2015); Международный семинар и конференция «Gordon Research Conference. Polar Marine Science» (Лукка, 2015); Международная конференция «39th Annual Larval Fish Conference» (Вена, 2015); 5-ая Международная конференция «Функционирование и динамика водных экосистем в условиях климатических изменений и антропогенных воздействий» с элементами школы для молодых ученых, посвященная памяти выдающегося гидробиолога, члена-корреспондента АН СССР профессора Георгия Георгиевича Винберга (1905-1987) (Санкт-Петербург, 2015), XXVIII Зимней молодежной научной школе «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии» (г. Москва, 8-11 февраля 2016), Российско-финском научном семинаре по теме «Biochemical biomarkers for environmental bioindication and biomonitoring» (г. Петрозаводск, 19-20 апреля 2016); 57th International conference on the Bioscience of lipids (ICBL) Chamonix - Mont Blanc, 4-8 September 2016, France; Конгрессе Университета Арктики – Uarctic-2016 (г. Санкт-Петербург, 13-15 сентября 2016); XV Всероссийском совещании с международным участием и VIII школе по эволюционной физиологии, посвященных памяти академика Л.А. Орбели и 60-летию ИЭФБ РАН (г. Санкт-Петербург, 17-22 октября 2016).

Список конкурсных проектов, в рамках которых выполнялись исследования

1. Программа Президента РФ «Ведущие научные школы» НШ-1410.2014.4;
2. Программа фундаментальных исследований Президиума РАН «Поисковые фундаментальные научные исследования в интересах развития Арктической зоны РФ», проекта «Эколого-биохимическая характеристика устойчивости гидробионтов Арктической зоны России в условиях изменения климата» (№ г.р. 114061940010).
3. Международный проект ES504895 «Timing of ecological processes in Spitsbergen fjords» (SpitsEco)

Благодарности

Автор выражает искреннюю признательность и благодарность преподавателям и наставникам: научному руководителю д.б.н., проф., чл.-корр. РАН Н.Н. Немовой, научному консультанту зав. лаб. экологической биохимии, к.б.н. С.А. Мурзиной, научному консультанту в.н.с., к.б.н. З.А. Нефедовой, а также другим сотрудникам лаборатории экологической биохимии ИБ КарНЦ РАН, специалистам в области исследования липидов - д.б.н., в.н.с. А.Л. Рабиновичу, к.б.н. Т.Р. Руоколайнен, ведущему химику Л.В. Марковой, к.б.н. П.О. Рипатти. Большая благодарность д.б.н., проф., зав. лаб. паразитологии животных и растений ИБ КарНЦ РАН Е.П. Иешко за ценную профессиональную помощь, научные дискуссии и рекомендации. Глубокая благодарность норвежским коллегам: проф. Стигу Фальк-Петерсену, проф. Йоргену Берге, проф. Оле Йоргену Лонне за ценные советы и всестороннюю помощь в организации научных экспедиций на научном судне «Helmer Hanssen» (UiT), а также выражаем признательность судовой команде за помощь в полевых работах.