

УДК [577.115+577.115.3]:591.3:597.556.33(985)

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЛИПИДОВ У МОЛОДИ *LEPTOCLINUS MACULATUS* ИЗ КОНГСФЬОРДА И РИПФЬОРДА АРХ. ШПИЦБЕРГЕН

© 2021 г. Член-корреспондент РАН Н. Н. Немова<sup>1</sup>, С. Н. Пеккоева<sup>1,\*</sup>, В. П. Воронин<sup>1</sup>, Т. Р. Руоколайнен<sup>1</sup>, S. Falk-Petersen<sup>2,3</sup>, J. Berge<sup>3,4,5</sup>, С. А. Мурзина<sup>1</sup>

Поступило 03.08.2021 г.

После доработки 13.08.2021 г.

Принято к публикации 14.08.2021 г.

Проведено сравнительное исследование липидного профиля молоди пятнистого лептоклина *Lepto-clinus maculatus* из фьордов различных доменов (арктическо-бореального Конгсфьорда и высоко-арктического Рипфьорда) акватории арх. Шпицберген летом. Установлено более эффективное накопление липидов у рыб из Конгсфьорда по сравнению с Рипфьордом за счет триацилглицерин и восков, что связано главным образом с трофическими условиями местообитания (видовой состав, обильность и доступность кормовых объектов). Более высокий уровень эфиров холестерина, чем восков у молоди L1 стадии развития в сравнении с таковым у рыб старшего возраста указывает на ее активное питание преимущественно фитопланктоном. Различия в содержании отдельных классов фосфолипидов могут указывать на адаптивные изменения на уровне биомембран, способствующие поддержанию гомеостаза клетки в ответ на воздействие абиотических факторов среды, а также отражать дополнительное их поступление с пищей на ранних стадиях развития рыбы.

**Ключевые слова:** *Lepto-clinus maculatus*, рыбы, Стихеевые, липиды, Арктика, постэмбриональное развитие

DOI: 10.31857/S2686738921060135

Лептоклин пятнистый *Lepto-clinus maculatus* (Fries, 1838) – арктическо-бореальный вид рыб из семейства Стихеевые (отряд Окунеобразные), который играет важную экологическую роль в трофических цепях арктических экосистем [1, 2]. Лептоклинус является ценным высокоэнергетическим кормовым объектом для многих видов рыб, птиц и даже млекопитающих [3, 4]. Несмотря на небольшие размеры (не более 20 см в длину), он накапливает в мышцах и в липидном мешке, провизорном органе пелагической молоди,

значительное количество липидов – до 40% и до 92% сухой массы, соответственно, преимущественно за счет активного питания зоопланктоном [1, 2, 5, 6]. Жизненный цикл лептоклина выделяется среди других арктических рыб длительным периодом развития молоди (3–5 лет) с последовательной сменой стадий развития от L1 до L5 [3, 5]. В литературе сравнительно немного сведений об изменении липидного профиля арктических видов рыб в процессе их развития [7, 8]. Ранее нами получены данные о качественном и количественном составе липидов мышц и липидного мешка лептоклина пятнистого L1–L5 стадий развития в Конгсфьорде акватории арх. Шпицберген в зимний период [5, 6].

В настоящей работе впервые проведен сравнительный анализ содержания общих липидов и отдельных липидных классов мышц и липидного мешка молоди лептоклина пятнистого в процессе роста и развития в заливах Конгсфьорд и Рипфьорд, различающихся экологическими факторами (температура, ледовый покров, кормовая база и др.), в наиболее продуктивный летний период (август). Сравнительные исследования динамики липидного состава в раннем постэмбриональном развитии представителя арктической

<sup>1</sup> Институт биологии – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”, Петрозаводск, Россия

<sup>2</sup> Akvaplan-niva AS, Fram Centre, Tromsø, Norway

<sup>3</sup> UiT The Arctic University of Norway, Department of Arctic and Marine Biology, Tromsø, Norway

<sup>4</sup> The University Centre in Svalbard, Longyearbyen, Norway

<sup>5</sup> Norwegian University of Science and Technology, Centre for Autonomous Marine Operations and Systems, Tromsø, Norway

\*e-mail: pek-svetlana@mail.ru



Рис. 1. Район сбора проб в акватории архипелага Шпицберген (Конгсфьорд (красная метка) и Рипфьорд (желтая метка)).

ихтиофауны лептоклина пятнистого *Leptoclinus maculatus* в фьордах различных доменов имеют особый интерес, так как важны для понимания адаптивных механизмов трансформации вещества и энергии (в данном случае – липидной природы) как в самом организме животного, так и в пищевых цепях арктических экосистем, незаменимым объектом которых он является.

Пробы для анализа были собраны в Конгсфьорде (L1–L4 стадии развития) и Рипфьорде (L1–L5 стадии развития) (рис. 1, табл. 1) акватории архипелага Шпицберген с использованием пелагического трала в ходе научно-исследовательского рейса на научном судне “Helmer Hanssen” (Арктический университет Норвегии). Конгсфьорд и Рипфьорд могут выступать модельными экосистемами для проведения сравнительных исследований, в том числе биохимических, к воздействию на организм гидробионтов биологических и экологических факторов среды. Согласно литературным данным, Конгсфьорд находится под влиянием холодных арктических водных масс, в том числе пресных вод ледников, лежащих в его основании, а также теплых и соленых атлантических вод Западного Шпицбергенского те-

чения, усиливающегося с началом полярного дня [9]. Рипфьорд – высокоарктический неглубокий фьорд, находящийся под сильным влиянием холодных и пресных арктических вод. Рипфьорд может быть покрыт льдом до шести-восьми месяцев в году [10], в то время как Конгсфьорд в последние десятилетия практически не покрывается льдом даже в период полярной ночи [9]. Теплые атлантические подземные воды практически не попадают в Рипфьорд со стороны Северного Ледовитого океана, однако отмечено незначительное влияние атлантических вод в систему фьорда, что приводит к адвекции некоторых бореальных видов, например таких, как веслоногий ракообразный *Calanus finmarchicus*, и вносит изменения в структуру пищевой сети [10, 11].

Оценку липидного профиля проводили по содержанию общих липидов (ОЛ) и их отдельных классов (структурных липидов – фосфолипидов (ФЛ), холестерина (ХС), энергетических липидов – триацилглицеринов (ТАГ), эфиров холестерина (ЭХС) и восков, в том числе впервые получены данные по содержанию моноацилглицеринов (МАГ), диацилглицеринов (ДАГ) и неэтерифицированных (свободных) жирных кислот (СЖК)),

Таблица 1. Гидрологические параметры мест сбора проб в Конгсфьорде и Рипфьорде в летний период

Название фьорда	Координаты	Глубина, м	$t_{\text{воды}}, ^\circ\text{C}$ поверхностный слой	$t_{\text{воды}}, ^\circ\text{C}$ глубина > 200 м	Соленость, psu
Конгсфьорд	78°57" с.ш.; 11°56" в.д	300–360	4.0	1.5	34.8
Рипфьорд	80°17" с.ш.; 22°15" в.д	140–275	5.4	0–0.5	34.7

с использованием метода высокоэффективной тонкослойной хроматографии.

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии выполнен анализ содержания отдельных классов фосфолипидов – фосфатидилнозитола (ФИ), фосфатидилсерина (ФС), фосфатидилэтаноламина (ФЭА), фосфатидилхолина (ФХ), лизофосфатидилхолина (ЛФХ), сфингомиелина (СФМ). Описание биохимических методов анализа липидов представлено нами ранее [5, 12, 13]. Статистическая обработка данных проведена в открытой программируемой среде R (версия 3.6.1.). Достоверность различий данных определяли с использованием непараметрического критерия Вилкоксона–Манна–Уитни [14]. Различия между значениями липидных показателей считали достоверными при  $p \leq 0.05$ . Биохимический анализ выполнен на базе лаборатории экологической биохимии ИБ КарНЦ РАН с использованием оборудования ЦКП Федерального исследовательского центра “КарНЦ РАН”.

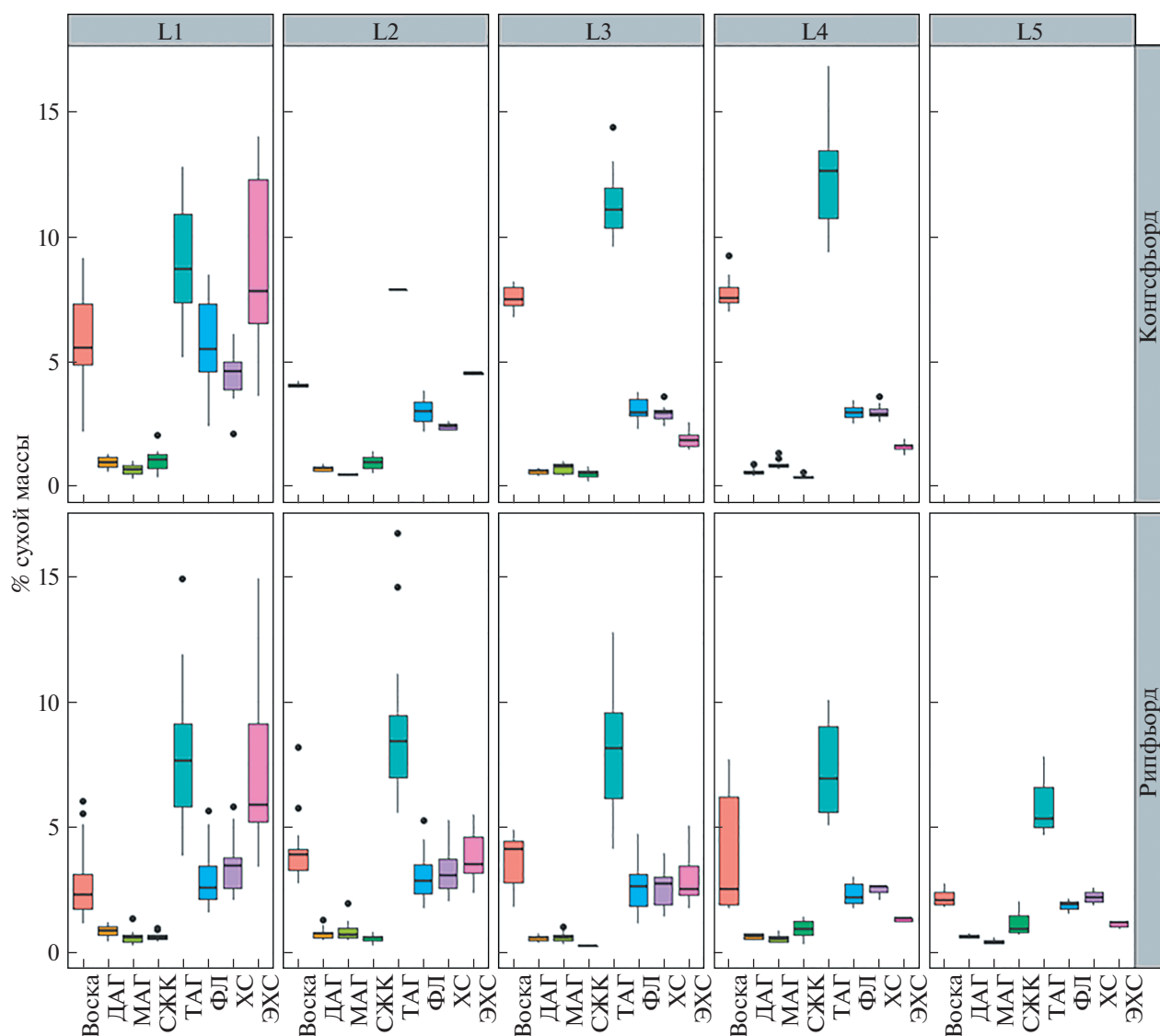
Относительно высокое содержание ОЛ установлено в мышцах молоди пятнистого лептоклина в процессе развития в Конгсфьорде (от 24 до 37% сухой массы) по сравнению с таковым у молоди из высокоарктического Рипфьорда (от 16 до 26%), главным образом, за счет запасных липидов (ТАГ и восков) (рис. 2). Содержание ТАГ, доминирующих в мышцах лептоклина, выше в Конгсфьорде (до 12% сухой массы), чем в Рипфьорде (до 8%). При этом только в Конгсфьорде показано его повышение в процессе роста и развития молоди рыбы от L1 к L4 стадии развития (от 8 до 12% сухой массы). Уровень восков также выше у молоди в Конгсфьорде и повышается от L1 к L4 стадии развития от 6 до 8% сухой массы. Содержание предшественников биосинтеза ТАГ – МАГ, ДАГ, а также СЖК менее или равно 1% на всех стадиях развития в обоих фьордах. В Конгсфьорде показатель ТАГ/ФЛ повышается от 1.8 до 4.1, а в Рипфьорде он варьирует от 2.7 до 3.1 в процессе роста и развития молоди лептоклина. Более эффективное накопление запасных липидов (ТАГ и воска) у рыб из арктическо-бореального Конгсфьорда в процессе роста и развития может быть связано с большим разнообразием кормовых объектов и их доступностью для питания в летний период. Известно, что в Конгсфьорд отличается разнообразием сосуществующих как бореальных, так и арктических видов фито- и зоопланктона, которые отражают изменения распределения и динамики водных масс Западного Шпицбергена [15]. При этом в Рипфьорде, главным образом, доминируют арктические представители планктона, что позволяет рассматривать их в качестве трофического маркера в сравнительных исследованиях пищевых взаимоотношений и сетей в Арктике.

Установлено, что стадия развития L1 достоверно отличается по липидному составу от других. Она характеризуется наибольшим уровнем ОЛ за счет ЭХС и ТАГ. Более высокое содержание ЭХС, чем восков в мышцах личинок L1 стадии развития в исследуемых фьордах по сравнению с таковым у молоди старшего возраста может указывать на онтогенетические особенности ее питания в летний период. Ранее полученные данные жирнокислотного состава личинок L1 стадии показали присутствие в ее питании фитопланктона в отличие от старшей молоди лептоклина, питающейся зоопланктоном [5].

Известно, что представители зоопланктона, веслоногие ракообразные – копеподы, как одни из основных объектов питания личинок рыб, запасают липиды преимущественно в форме восков [16], в то время как в липидном профиле фитопланктона наравне с ТАГ запасаются ЭХС [17], что находит отражение на липидном профиле рыб, питающихся фитопланктоном, и в данном случае, и личинки лептоклина L1.

Молодь L1 стадии развития из Конгсфьорда также выделяется более высоким содержанием ФЛ – 6% сухой массы, чем таковое у рыб в Рипфьорде – 3%. При этом уровень ФЛ у рыб других стадий развития (L2–L5) в обоих фьордах находится в пределах 2.5–3% сухой массы. Личинки L1 стадии развития держатся, главным образом, в поверхностном слое воды [2], и потому, в большей степени подвержены воздействию изменений температурных колебаний, что находит отражение в изменении липидного состава биомембран за счет соотношения ХС и ФЛ [18], как одного из биохимических механизмов компенсаторного ответа организма на воздействие факторов среды. Кроме того, потребность организма рыб в пищевых ФЛ снижается от личинки к ювенильной особи [19]. Количество ХС варьирует в процессе развития молоди лептоклина от 2 до 4% в обоих фьордах. Показатель соотношений липидов ХС/ФЛ (коэффициент Дьердии) у рыб в Конгсфьорде изменялся в пределах 0.8–1.0, а в высокоарктическом Рипфьорде был выше на всех стадиях развития лептоклина – 1.0–1.1. Более высокое значение коэффициента Дьердии у рыб в Рипфьорде указывает на изменение физико-химического состояния биомембран в их организме для поддержания гомеостаза внутренней среды при действии более низких температур в глубинных слоях воды. Результатом является усиление вязкости биомембран за счет ХС, что уменьшает ионную проницаемость и изменяет активность мембраносвязанных ферментов.

Установлено, что в мышцах молоди лептоклина на всех стадиях развития преобладает ФХ, в меньшем количестве содержится ФЭА, что подтверждает их высокую значимость в составе мем-



**Рис. 2.** Содержание отдельных классов липидов (% сухой массы) в мышцах молоди лептоклина пятнистого *Leptoclinius maculatus* из Конгсфьорда и Рипфьорда арх. Шпицберген. Обозначения: L1, L2, L3, L4, L5 – исследуемые стадии развития, ФЛ – фосфолипиды, ХС – холестерин, ТАГ – триацилглицерины, ЭХС – эфиры холестерина, МАГ – моноацилглицерины, ДАГ – диацилглицерины и СЖК – незтерифицированные (свободные) жирные кислоты.

бран, и в том числе метаболическую. Известно, что позвоночные животные холодных вод имеют ограниченные способности биосинтеза ФЛ и поэтому получают их главным образом при питании [19]. Уровень ФХ у лептоклина в Конгсфьорде варьирует от 2.3 до 4.6% сухой массы и достоверно более высокий, чем у молоди в Рипфьорде. Наибольшее содержание ФХ и ФЭА показано для L1 стадии развития лептоклина, что необходимо для обеспечения эффективного роста и оптимального физиологического состояния рыб в раннем онтогенезе [20]. Содержание других классов фосфолипидов (ФИ, ФС, СФМ, ЛФХ) в мышцах молоди лептоклина незначительное (меньше или равно 0.1% сухой массы). Однако установленные

достоверные различия их уровня указывают на их роль в организме не только как структурных компонентов, но и как вторичных мессенджеров во многих клеточных процессах, в том числе компенсаторного характера в ответ на изменение внешних факторов среды.

Сравнительное исследование содержания ОЛ и их классов в липидном мешке лептоклина пятнистого (L3, L4 стадий развития) показало отсутствие значимых различий в процессе его раннего постэмбрионального развития в Конгсфьорде и Рипфьорде. Полученные данные указывают на то, что липидный мешок сохраняет свое основное функциональное значение (прежде всего как энергетическое депо, а также – обеспечение пла-

вучести) [2, 5] в различных условиях Арктики. Несмотря на различающиеся условия среды в исследованных фьордах, ключевой является стратегия накопления липидов в липидном мешке молодой лептоклина, что, в том числе, обеспечивает выживание и развитие личинок в зимний период. Уровень общих липидов на L3, L4 стадиях развития у молоди лептоклина из Конгсфьорда составляет – 85 и 87% сухой массы соответственно по стадиям, а в полярную ночь – 76 и 85% [6]. При этом активное питание в летний и далее в осенний периоды способствует запасанию ТАГ в липидном мешке личинок рыбы к зиме, так как уровень этого класса липидов выше в полярную ночь, чем летом (69 и 55% сухой массы соответственно на L3 и L4 стадиях развития в полярную ночь и 43 и 44% сухой массы соответственно по стадиям в летний период) [6].

Так, в работе впервые представлены данные по содержанию ОЛ и отдельных классов липидов, группы ведущих компонентов липидного метаболизма (ФЛ, МАГ, ДАГ, ТАГ, СЖК, ХС, ЭХС, восков), в мышцах и в липидном мешке лептоклина пятнистого в процессе раннего постэмбрионального развития во фьордах различных доменов (арктическо-бореальном Конгсфьорде и высокоарктическом Рипфьорде) акватории арх. Шпицберген в летний период. Установлено более эффективное накопление ОЛ за счет ТАГ и восков в мышцах молоди лептоклина из Конгсфьорда по сравнению с Рипфьордом, при этом в липидном мешке отмечено поддержание определенного уровня как ОЛ, так и других исследуемых показателей, что демонстрирует единую физиолого-биохимическую стратегию жизнедеятельности вида в условиях Арктики. Полученные данные позволяют предположить, что различия в содержании запасных липидов в мышцах молоди лептоклина связаны прежде всего с трофическими условиями (присутствие арктических и атлантических видов зоопланктона в Конгсфьорде). Впервые показан более высокий уровень ЭХС, чем восков на L1 стадии развития лептоклина, что связано с ее активным питанием (преимущественно фитопланктоном) в продуктивный летний период. Различия в содержании отдельных классов структурных ФЛ могут указывать на адаптивные изменения на уровне биомембран для поддержания гомеостаза клетки в ответ на воздействие абиотических факторов среды, а также могут отражать дополнительное поступление при питании на ранних стадиях развития рыбы.

Таким образом, установленные различия в содержании классов запасных липидов в мышцах молоди лептоклина пятнистого отражают особенности его питания в процессе развития в Конгсфьорде и высокоарктическом Рипфьорде арх. Шпицберген в летний период. При этом выявленные вариации на уровне структурных ли-

пидов связаны с поддержанием надлежащего физико-химического состояния биомембран, обеспечивающего оптимальную работу мембраносвязанных ферментов и их комплексов в соответствующих температурных условиях местообитания молоди.

#### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа частично выполнена в рамках государственного задания № 0218-2019-0076; научное исследование проведено при финансовой поддержке Гранта Президента РФ МК-2188.2020.4 (2020–2021).

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы использования животных в экспериментах и условия ухода за ними были соблюдены.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Falk-Petersen S., Falk-Petersen I.-B., Sargent J.R.* Structure and function of an unusual lipid storage organ in the Arctic fish *Lumpenus maculatus* Fries, 1838 // *Sarsia*. 1986. № 71. P. 1–6.
2. *Мурзина С.А.* Роль липидов и их жирнокислотных компонентов в биохимических адаптациях люмпена пятнистого *Leptoclinus maculatus* F. северо-западного побережья о. Шпицберген: Дисс. ... канд. биол. наук. Петрозаводск, 2010. 184 с.
3. *Meyer Ottesen C.A., Haakon H., Schou Christiansen J., et al.* Early life history of the daubed shanny (Teleostei: *Leptoclinus maculatus*) in Svalbard waters // *Marine Biodiversity*. 2011. V. 41. № 3. P. 383–394.
4. *Murзина S.A., Sokolov S.G., Pekkoeva S.N., et al.* First data on the parasite fauna of daubed shanny *Leptoclinus maculatus* (Fries 1838) (Actinopterygii, Perciformes: Stichaeidae) in Svalbard waters // *Polar Biology*. 2019. V. 42. № 4. P. 831–834.
5. *Pekkoeva S.N., Murзина S.A., Nefedova Z.A., et al.* Ecological role of lipids and fatty acids in the early postembryonic development of daubed shanny, *Leptoclinus maculatus* (Fries, 1838) from Kongsfjorden, West Spitsbergen in winter // *Rus. J. of Ecology*. 2017. V. 48. № 3. P. 240–244.
6. *Pekkoeva S.N., Murзина S.A., Nefedova Z.A., et al.* Fatty acid composition of the postlarval daubed shanny (*Leptoclinus maculatus*) during the polar night // *Polar Biology*. 2020. V. 43. № 6. P. 657–664.
7. *Tocher D.R.* Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish // *Aquaculture Research*. 2010. V. 41. № 5. P. 717–732.
8. *Copeman L., Spencer M., Heintz R., et al.* Ontogenetic patterns in lipid and fatty acid biomarkers of juvenile polar cod (*Boreogadus saida*) and saffron cod (*Eleginus*

- gracilis*) from across the Alaska Arctic // *Polar Biol.* 2020. V. 43. P. 1121–1140.
9. Cottier F. Water mass modification in an Arctic fjord through cross-shelf exchange: the seasonal hydrography of Kongsfjorden, Svalbard // *J. Geophys. Res. Oceans.* 2005. V. 110. P.12005.
  10. Wang C., Shi L., Gerland S., et al. Spring sea-ice evolution in Rijpfjorden (80 N), Svalbard, from in situ measurements and ice mass-balance buoy (IMB) data. *Annals of Glaciology.* 2013. V. 54. № 62. P. 253–260.
  11. Willis K., Cottier F.R., Kwasniewski S., et al. The influence of advection on zooplankton community composition in an Arctic fjord (Kongsfjorden, Svalbard) // *J. Marine Systems.* 2006. V. 6. P. 39–54.
  12. Мурзина С.А., Нефедова З.А., Руоколайнен Т.Р., и др. Динамика содержания липидов в процессе раннего развития пресноводного лосося *Salmo salar* L. // *Онтогенез.* 2009. Т. 40. № 3. С. 208–214.
  13. Воронин В.П., Мурзина С.А., Нефедова З.А., и др. Сравнительно-видовая характеристика липидов и их динамика в процессе эмбрионального и раннего постэмбрионального развития атлантического лосося (*Salmo salar* L.) и кумжи (*Salmo trutta* L.) // *Онтогенез.* 2021. Т. 52. № 2. С. 108–119.
  14. Кабаков П.И. R в действии. Анализ и визуализация данных в программе R / Пер. с англ. Полины А. Волковой. М.: ДМК Пресс, 2014.
  15. Kwasniewski S., Hop H., Falk-Petersen S., et al. Distribution of *Calanus* species in Kongsfjorden, a glacial fjord in Svalbard // *J. Plankton Res.* 2003. V. 25. P. 1–20.
  16. Lee R., Hagen W., Kattner G. Lipid storage in marine zooplankton // *Marine ecology Progress Series.* 2006. № 307. P. 273–306.
  17. Henderson R.J., Tocher D.R. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish // *Progr. Lipid Res.* 1987. V. 26. № 4. P. 281–347.
  18. Финагин Л.К. Обмен холестерина и его регуляции. Киев, 1980.
  19. Tocher D.R., Bendiksen E., Campbell P., et al. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of Teleost fish // *Aquaculture.* 2008. V. 280. P. 21–34.
  20. Kanazawa A., Teshima S.-I., Sakamoto M. Effect of dietary lipids, fatty acids, and phospholipids on growth and survival of prawn (*Penaeus japonicus*) larvae // *Aquaculture.* 1985. V. 50. P. 39–49.

## COMPARATIVE STUDY OF LIPID CONTENT IN *LEPTOCLINUS MACULATUS* POSTLARVAE FROM KONGSFJORD AND RJIPIFJORD, SPITSBERGEN

Corresponding Member of the RAS N. N. Nemova<sup>a</sup>, S. N. Pekkoeva<sup>a, #</sup>, V. P. Voronin<sup>a</sup>, T. R. Ruokolainen<sup>a</sup>, S. Falk-Petersen<sup>b, c</sup>, J. Berge<sup>c, d, e</sup>, and S. A. Murzina<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation

<sup>b</sup> Akvaplan-niva AS, Fram Centre, Tromso, Norway

<sup>c</sup> UiT The Arctic University of Norway, Department of Arctic and Marine Biology, Tromso, Norway

<sup>d</sup> The University Centre in Svalbard, Longyearbyen, Norway

<sup>e</sup> Norwegian University of Science and Technology, Centre for Autonomous Marine Operations and Systems, Tromso, Norway

<sup>#</sup>e-mail: pek-svetlana@mail.ru

A comparative study of lipid profile of the daubed shanny postlarvae *Leptoclinus maculatus* from fjords of different domains (arctic-boreal Kongsfjord and high Arctic Rjipfjord) of Spitsbergen archipelago in summer was performed. A higher level of storage of lipids in fishes from Kongsfjord compared to Rjipfjord due to triacylglycerols and wax esters was established. These differences assumed mainly related to trophic conditions of the habitat (species composition, abundance, and availability of food items). Determined higher level of cholesterol esters than wax esters at L1 stage of development of the daubed shanny postlarvae compared to older fish pointed to his active feeding mainly on phytoplankton. Differences in the content of individual classes of phospholipids may indicate adaptive changes at the level of biomembranes, contributing to the maintenance of cell homeostasis in response to abiotic environmental factors, and reflect their additional intake with food at the early stages of fish development.

**Keywords:** *Leptoclinus maculatus*, fishes, Stichaeidae, lipids, Arctic, postembryonic development