

На правах рукописи

МУРЗИНА

Светлана Александровна

**РОЛЬ ЛИПИДОВ И ИХ ЖИРНОКИСЛОТНЫХ
КОМПОНЕНТОВ В БИОХИМИЧЕСКИХ
АДАПТАЦИЯХ ЛЮМПЕНА ПЯТНИСТОГО
LEPTOCLINUS MACULATUS F. СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО
ПОБЕРЕЖЬЯ О. ШПИЦБЕРГЕН**

Специальность 03.01.04 – биохимия

Автореферат
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Петрозаводск 2010

Работа выполнена в Учреждении Российской академии наук Институте биологии Карельского научного центра РАН

Научный руководитель: член-корреспондент РАН,
д.б.н., профессор
НЕМОВА Нина Николаевна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
АВРОВА Наталья Федоровна
доктор биологических наук, профессор
МИКОДИНА Екатерина Викторовна

Ведущая организация: Институт биологии развития
им. Н.К. Кольцова РАН

Защита состоится **25 февраля в 12.00** на заседании объединенного диссертационного совета (ДМ 212.087.02) при Карельской государственной педагогической академии по адресу: 185680, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 17

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Карельской государственной педагогической академии (185680, г.Петрозаводск, ул. Пушкинская, 17)

Автореферат разослан « » января 2010 года

Ученый секретарь
Диссертационного совета

А.И. Малкиель

Актуальность темы. Одной из центральных проблем биологии является проблема устойчивости организма и его адаптации к изменяющимся факторам среды. Адаптации обеспечиваются деятельностью целого комплекса механизмов, среди которых особую роль играют биохимические механизмы, лежащие в основе развития компенсаторных реакций клетки (Хочачка, Сомеро, 1988). При изменении условий среды или переходе организма на новую стадию развития возникают новые задачи, для решения которых необходимо учитывать количественные и качественные изменения в биохимическом метаболизме, как отдельного органа, так и всего организма.

Липиды и жирные кислоты выполняют важные функции в клеточном метаболизме и играют существенную роль в биохимических адаптациях у арктических видов (Cossins & Prosser, 1978; Lund & Sidell, 1992; Stuart et al., 1998; Аракелова и др., 2004). Они служат не только источниками энергии в организме, но и являются необходимыми структурными компонентами клеточных мембран. Отличия липидов морских организмов, обитающих в арктических широтах, от липидов гидробионтов умеренных широт, являются не столько качественными, сколько количественными. Условия существования незначительно сказываются на наборе определенных типов липидов, что подтверждает их генетическую детерминированность (Крепс, 1981). Содержание липидов в организме отражает экологические особенности жизни рыб, а данные о сезонной, популяционной и межгодовой изменчивости позволяют оценить их значение в различные периоды их жизненного цикла. Функциональные свойства липидов во многом определяются жирнокислотными цепями, которые входят в их состав, являются наиболее лабильными компонентами и сравнительно быстро включаются в процессы развития адаптивных реакций. Сравнительное изучение спектров жирных кислот позволяет детально и многогранно оценить роль липидных компонентов в адаптациях арктических и субарктических видов рыб к условиям Севера.

Объектом исследования был выбран типичный арктический вид - люмпен пятнистый *Leptoclinus maculatus* (Fries 1838), мальки и взрослые особи которого широко представлены в арктических водах северной Норвегии вплоть до 80° с.ш. при температуре ниже 0° С. Данный вид хорошо приспособлен к жизни в суровых условиях Арктики с сезонной сменой ряда абиотических факторов. Известно, что для разных видов морских птиц и млекопитающих *Leptoclinus maculatus* является основным объектом питания. Он занимает двойную нишу в арктических трофических цепях, выступая одновременно в роли и хищника, и жертвы (Falk-Petersen et al., 2008). Биология и экология люмпена пятнистого изучены недостаточно. Известно, что до трехлетнего возраста мальки обитают в пелагиали, затем медленно опускаются на дно, полностью

меня среду обитания, образ жизни и тип питания. Биохимические адаптации к этим факторам не могут не включать изменений в липидном статусе рыб. Следует отметить, что данные о динамике состава липидов и жирных кислот в жизненном цикле люмпена пятнистого очень немногочисленны. Такого рода исследования могут иметь несомненное значение не только для понимания фундаментальных основ роли биохимических адаптаций в приспособлении водных организмов к жизни в условиях высоких широт, но и для использования при решении прикладных задач, связанных с повышением продуктивности ценных промысловых видов рыб в арктическом и субарктическом регионе, для которых люмпен пятнистый является одним из главных пищевых объектов.

Цель работы: изучение роли липидного и жирнокислотного состава тканей и органов пелагических мальков и донных взрослых особей арктического вида *Leptoclinus maculatus* F. (люмпена пятнистого) в различных эколого-физиологических ситуациях.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать содержание общих липидов и их отдельных классов (триацилглицеринов, холестерина, восковых эфиров, общих фосфолипидов и фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина, фосфатидилсерина, лизофосфатидилхолина, фосфатидилинозитола, сфингомиелина, а также жирных кислот общих липидов) в мышцах и жировом мешке мальков, печени, мышц и гонадах взрослых особей люмпена пятнистого, взятых для анализа из трех разных биотопов Северо-западного побережья о. Шпицберген;

2. Изучить состояние липидного мешка и мышц мальков люмпена пятнистого из трех разных биотопов северо-западного побережья о. Шпицберген с использованием методик гистологического анализа;

3. Выявить особенности накопления липидов в оогенезе люмпена пятнистого в условиях Арктики в сезонном аспекте на основе гистологического анализа печени и гонад самок;

4. Установить особенности биохимических адаптаций на уровне липидного статуса у исследуемых рыб, в зависимости от разных абиотических, биотических и физиологических факторов (температуры, питания, развития, сезонности, двигательной активности и др.).

Научная новизна. Впервые исследован липидный и жирнокислотный состав мальков и взрослых особей люмпена пятнистого *L. maculatus* северо-западного побережья о. Шпицберген в летний сезон. Проведено изучение суммарного содержания липидов и их отдельных классов, а также жирных кислот рыб в зависимости от экологических и физиологических факторов: установлена связь между жирностью органов и стадией зрелости гонад, исследованы

особенности накопления липидов в гонадах взрослых самок, установлены возможные сроки икрометания и выклева мальков люмпена пятнистого в арктическом регионе, исследована связь между питанием и содержанием липидов в органах мальков и взрослых особей *L. maculatus*, исследованы особенности жизненного цикла рыбы в летний арктический сезон северо-западного побережья о. Шпицберген (3 отдельных биотопа). Ранее такие работы на данном объекте не проводились. Выполненные исследования позволили получить новую информацию о липидном составе мальков и взрослых особей люмпена пятнистого, что дает возможность проследить пути трансформации и перемещения липидов по звеньям пищевой цепи.

На защиту выносятся:

- результаты биохимического и гистологического анализа мышц и липидного мешка мальков, а также мышц, печени и гонад взрослых особей люмпена пятнистого северо-западного побережья о.Шпицберген;
- закономерности ускоренного накопления липидов в тканях и органах гидробионтов Арктики;
- существенность влияния липидных компонентов объектов питания на жирнокислотный состав тканей и органов мальков и взрослых особей люмпена пятнистого.

Практическое значение работы. Результаты детального изучения биологии и биохимии (липидного и жирнокислотного состава) одного из ключевых видов Арктики и Субарктики - *Leptoclinus maculatus*, играющего важнейшую роль в питании ценных видов арктических рыб (полярная треска, камбала), могут быть использованы в постановке и решении различных практических задач, связанных с повышением продуктивности ценных промысловых видов рыб в арктическом регионе. Кроме того, полученные в работе данные о биохимических адаптациях липидного и жирнокислотного состава люмпена пятнистого могут иметь значение в проведении мониторинговых исследований состояния рыб Арктики и Субарктики в условиях изменяющихся факторов среды, в том числе климатических и антропогенных. Материалы диссертации можно использовать в учебном процессе при чтении лекционных курсов «Экологическая биохимия» и «Биохимия животных» для студентов биологических факультетов университетов.

Апробация работы. Основные результаты диссертации были представлены на международных, всероссийских конференциях и коллоквиумах (7 устных и 11 стендовых презентаций): международной конференции «Arctic Frontiers» (Tromsø, 2007, 2008, 2009, 2010), 2-ой научной конференции с участием стран СНГ «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» (Петрозаводск, 2007), IV съезде Российского общества биохимиков и молекулярных биологов (Новосибирск, 2008), Всероссийской конферен-

ции с международным участием «Северные территории России: проблемы и перспективы развития» (Архангельск, 2008), международной конференции SCAR/IASC IPY Open Science Conference Polar research-Arctic and Antarctic Perspective in the International Polar Year (Санкт-Петербург, 2008), 49th ICBL (Maasticht, 2008), Российско-польской школе-конференции молодых экологов Arctic and sub-Arctic region: ecological research work (Засоране, 2008), XVIII Международной конференции «Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского севера» (Петрозаводск, 2009).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 16 печатных работ, из которых 2 статьи в журналах, рекомендуемых ВАК, 3 статьи в других изданиях и 11 тезисов докладов.

Структура и объем работы. Работа состоит из введения, 4 глав: обзор литературы, материалов и методов, результатов исследований, обсуждения результатов, заключения и выводов. Диссертационная работа изложена на 184 страницах машинописного текста, содержит 20 таблиц, 101 рисунок. Список цитируемой литературы включает 195 названий, из них 123 иностранных.

Список сокращений. ОЛ - общие липиды, ФЛ – фосфолипиды, ФХ – фосфатидилхоллин, ФЭА – фосфатидилэтаноламин, ФИ – фосфатидилинозитол, ФС – фосфатидилсерин, СФМ - сфингомиелин, ЛФХ – лизофосфатидилхоллин, ТАГ – триацилглицерины, ВЭф - восковые эфиры, ХС – холестерин, ЖК - жирные кислоты, НЖК - насыщенные жирные кислоты, МНЖК - мононенасыщенные жирные кислоты, ПНЖК - полиненасыщенные жирные кислоты, ДГК - докозагексаеновая кислота, ЭПК – эйкозапентаеновая кислота.

Благодарности. Автор выражает искреннюю признательность и благодарность своим учителям и наставникам: научному руководителю чл.-корр. РАН, д.б.н. Н.Н. Немовой, научному консультанту к.б.н. З.А. Нефедовой, сотрудникам лаборатории «Экологической биохимии» ИБ КарНЦ РАН д.ф.-м.н. А.Л. Рабиновичу, к.б.н. П.О. Рипатти, к.б.н. Т.Р. Руоколайнен, гл. биологу Л.В. Марковой за ценную профессиональную помощь, научные советы и дискуссии. Отдельная благодарность сотрудникам Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО): зав. лабораторией прикладной физиологии и морфологии гидробионтов к.б.н. М.А. Седовой, к.б.н. О.Г. Полуектовой, Е. Павлову за организацию и проведение гистологических работ по теме диссертации на базе лаборатории. Глубокая благодарность норвежским коллегам: научному консультанту профессору Стигу Фальк-Петерсену, профессору Йоргену Берге, профессору Хокону Хопу за всестороннюю помощь в организации экспедиций на норвежском научном судне «Ян

Майен», ценные рекомендации по работе с публикациями. Выражаем признательность судовой команде за помощь в полевых работах на борту научно-исследовательского судна «Ян Майен».

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных исследований № 08-04-01140-а и № 08-04-98843-р-север а, Программы «Ведущие научные школы» НШ-4310.2006.4 и НШ-306.2008.4, а также при поддержке STATOIL, University centre in Svalbard, Norwegian Polar Institute, and the Scottish Association for Marine Science.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы

В обзоре литературы изложены современные представления о роли и функциях липидов в биохимических адаптациях, в том числе у организмов, обитателей высоких широт. Рассмотрены особенности транспорта, эффективного накопления и использования липидных компонентов в пищевых цепях Арктики при влиянии характерных экологических условий среды. Рассмотрены известные факты биологии и экологии объекта исследования – арктического вида *Leptoclinus maculatus* F., рассмотрены особенности среды его обитания – северо-западного побережья о. Шпицберген. Обобщены современные представления о функциях отдельных липидных фракций в биохимических адаптациях животных в условиях высоких широт. Обозначены нерешенные вопросы и перспективы исследования гидробионтов арктического и субарктического региона.

Глава 2. Материал и методы исследований

Материал исследования. Мальки и взрослые особи люмпена пятнистого *Leptoclinus maculatus* F.

Район сбора проб. Сбор проб проводился в ходе экспедиций на норвежском научном судне R/V “Jan Mayen” в районе северо-западного побережья острова Шпицберген. Пробы женских гонад взрослых самок люмпена пятнистого собраны сезонно (зима, лето, осень) в ходе трех экспедиций: арктической зимы (апрель, 2008), лета (июль, 2007), осени (сентябрь-октябрь, 2007). Мальки люмпена были собраны с трех биотопов – внутри фиорда Исфиорд (78°20'N 15°00'E), внутри фиорда Конгсфиорд (79°00'N. 11°40'E) и вне фиордов, в открытом море, в районе морской станции V10, с помощью пелагического трала на глубине 50 м, в июле 2007 года. Взрослые особи люмпена пятнистого были отловлены в двух морских биотопах фиорда Конгсфиорд, на морских биологических станциях под названиями KB1, KB3 и вне фиорда на станции V10 при помощи донного трала на глубине от 150 до 340 м в июле 2007 года. Некоторые характеристики участков сбора проб приведены в табл. 1.

Характеристики участков сбора проб

Параметр/ Участок	Исфиорд	КВ1	КВ3	V10
Координаты (с.ш. – в.д.)	78°18' – 15008'	79°67' – 11°66'	78°24' – 11°37'	78°95' – 08°81'
Глубина (тах)	280 м	350 м	200 м	360 м
Соленость: 0-50 м	33,0 – 34,5 ‰	33,5 – 35,0 ‰	32,4 – 34,4 ‰	31,0 – 35,0 ‰
50-100 м	34,5 – 35,0 ‰	35,0 ‰	34,5 – 34,7 ‰	35,0 ‰
Более 100 м	35,0 ‰	35,0 ‰	34,7 ‰	35,0 ‰
Температура: 0-50 м	7,2° – 1,4°C	7,2° – 4,2°C	7,2° – 3,6°C	6,4° – 2,8°C
50-100 м	1,4° – 0°C	4,2° – 3,2°C	3,6° – 1,8°C	2,8°C
Более 100 м	-0,4°C	1,1°C	0,4°C	1,6°C

Экстракция липидов и анализ общих липидов. Ткани и органы рыб фиксировали в 96% этаноле для дальнейшего биохимического анализа. Липиды экстрагировали по методу Folch et al. (1957). Фракционирование суммарных липидов проводили методом тонкослойной хроматографии на пластике "Silufol" в системе растворителей: петролейный эфир:серный эфир:уксусная кислота (90:10:1, по объему). Количественное определение ФЛ, ТАГ, ВЭф определяли гидроксаматным методом (Сидоров и др., 1972), ХС – по реакции с окрашивающим реагентом (Engelbrecht et al., 1974).

Определение состава ФЛ. Фракционный анализ ФЛ проводили с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборе «Цвет-4000» (Россия) по методу Aurduini et al., (1996).

Определение ЖК состава. Выделенные липиды подвергали прямому метанолизу (Цыганов, 1971). Полученные смеси метиловых эфиров ЖК определяли методом газожидкостной хроматографии на приборе «Хроматэк Кристалл-5000.1» (Россия).

Статистическая обработка данных. Достоверность различий данных оценивали с помощью непараметрического критерия U Уилкоксона-Манна-Уитни (Гублер, Генкин, 1969). Различия считались достоверными при $p \leq 0,05$.

Фиксация проб и гистологический анализ. Навеску ткани 1г фиксировали в 4%-растворе формальдегида. Проводку и пропитку парафином осуществляли через автоматическую систему карусельного типа - модель STP-120, проводка в желатину велась вручную. Приготовление парафиновых блоков вели с использованием заливочной станции ЕС-350. Резку парафиновых блоков осуществляли на санном микротоме, толщина среза 0,5 мкм. Резку желатиновых блоков проводили на охлаждающем микротоме, толщина среза 0,8 мкм. Окраска проводилась сле-

дующими красителями: гематоксилин-эозин, Судан черный, Судан III. Изучение микроснимков проводили с использованием светового микроскопа Leica DC с окуляром (×10) и объективами x5; x10; x20; x40; x100, и цифровой камерой Leica DC.

Глава 3. Результаты исследований и их обсуждение

3.1. Содержание общих липидов, индивидуальных фосфолипидов и жирных кислот в мышцах и жировом мешке мальков люмпена пятнистого из трех биотопов (Исфиорд, Конгсфиорд и V10) северо-западного побережья о. Шпицберген и их роль в биохимических адаптациях

Установлено, что содержание ОЛ в мышцах мальков, выловленных в трех биотопах – Исфиорд, Конгсфиорд и V10, составляло 26,24, 27,95 и 24,48% сухого вещества, а в жировом мешке молоди из этих же биотопов – 43,43; 50,50 и 64,43% сухого вещества соответственно. При этом, уровень ОЛ в мышцах и жировом мешке мальков, выловленных в трех биотопах, был относительно высок и существенно не различался, что указывает на общую стабильность ОЛ при действии экологических факторов среды. У мальков люмпена основным депо является липидный или жировой мешок, а часть липидов запасена в мышечной ткани. Как показал гистологический анализ липидный мешок и многочисленные липидные капли в нем окружены простой мембраной. Жировые депо характеризуются высоким уровнем запасных липидов. Как в мышцах, так и в жировом мешке доминирующую позицию среди ОЛ занимают энергетические липиды – ТАГ и ВЭФ. В жировом мешке накапливаются ТАГ, а в мышцах – ТАГ и ВЭФ (рис. 1).

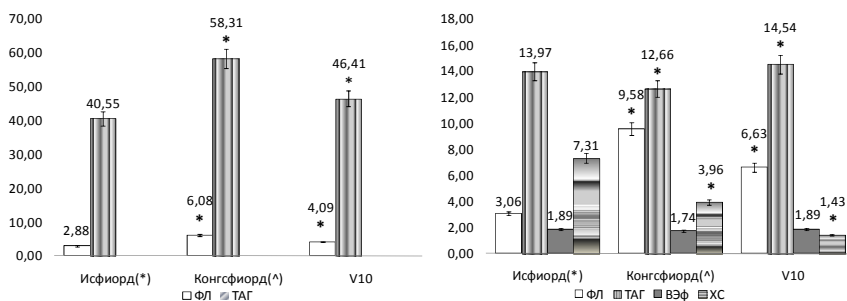


Рисунок 1. Содержание ФЛ, ТАГ, ВЭФ, ХС (% сухого вещества) в липидном мешке (слева) и мышцах (справа) молоди люмпена *L. maculatus* из трех биотопов.

Примечание, здесь и далее: по оси абсцисс – название биотопов, по оси ординат – % сухого вещества; * - различия достоверны ($p \leq 0,05$) у молоди из Исфиорда и Конгсфирда; ^ - различия достоверны ($p \leq 0,05$) у молоди из Конгсфиорда и V10

ТАГ являются запасными быстрообменивающимися липидами у пелагических рыб, которые накапливаются в мышцах и липидном мешке у мальков за счет питания высокоэнергетической пищей (*Calanus glacialis* и *Calanus finmarchicus*) в течение короткого арктического лета. Самый большой уровень ТАГ был установлен в мышцах мальков из открытого и глубоководного биотопа V10 по сравнению с молодь из двух фиордов – Исфиорд и Конгсфиорд. При этом содержание ТАГ у особей из Исфиорда выше в мышцах и ниже в липидном мешке, чем таковое у рыб из Конгсфиорда, что указывает на разные трофо-экологические и гидрографические условия в трех исследованных биотопах. Открытый биотоп V10 расположен вне фиорда, где происходит смешение теплых атлантических с более холодными арктическими водами в пелагической зоне, поэтому акватория разнообразна по качеству и количеству кормовых объектов (Нор et al., 2002; Weslavski et al., 2006; Søreide et al., 2008). Известно, что теплые воды атлантического течения летом имеют разный характер распределения во фиордах: в Конгсфиорде течение влияет на всю площадь фиорда и малькам приходится больше двигаться в поисках привлекательного для них корма, а в большем по размерам Исфиорде оно затрагивает только поверхностные слои воды на входе, а внутренние шельфовые воды находятся под влиянием опресненных ледниковых вод (Нор et al., 2002; Weslavski et al., 2006). Запасание липидов в жировом мешке и мышцах мальков обусловлено не только их основной - энергетической функцией, но и связано с обеспечением плавучести мальков в пелагическом слое воды.

Установлено, что в липидном мешке мальков люмпена из трех биотопов полностью отсутствует ХС - представитель структурных липидов (рис. 1). В мышцах мальков из Исфиорда и Конгсфиорда выявлен высокий уровень ХС, который доминирует над ФЛ, по сравнению с таковым у молоди люмпена из биотопа V10. Различное количество ХС в клеточных мембранах регулирует не только морфологическую стабильность, но и проницаемость по отношению к растворимым веществам, за счет своей возможности переходить с одной стороны мембраны на другую (Кольман, Рем, 2000). Установлено, что в мышцах рыб люмпена из разных биотопов молярное соотношение ХС/ФЛ различается. Как известно, в определенных пределах это соотношение может варьировать и указывать на степень функциональной активности мембраносвязанных ферментов. Более высокий показатель ХС/ФЛ (2,38) за счет ХС в мышцах молоди рыб из биотопа Исфиорд указывает на повышение устойчивости биомембран к

пониженным температурам в этом биотопе (за счет таяния ледников). Оказалось, что молодь люмпена, обитающая в Исфиорде, в большей степени используют в пищу арктические виды копепод (*Calanus glacialis*), сконцентрированы у шельфовых вод этого фиорда. Они могут быть источником пищевого ХС в тканях мальков.

Проведенный гистологический анализ липидных мешков люмпена показал, что каждая его липидная капля окружена простой мембраной, в состав которой входят ФЛ. ФЛ липидных мешков рыб из трех биотопов не различались количеством ФХ, но уровень ФЭА и минорных фракций – ЛФХ и СФМ варьировал (табл. 2). Возможно, изменением своей концентрации эти ФЛ оказывают влияние на модификацию мембран (оболочек) липидного мешка, тем самым регулируя процесс поступления и расходования запасных липидов в мешке. Показано, что клеточная мембрана липидных мешков участвует в липидном обмене, который находится под нервно-гормональным контролем (Eastman, DeVries, 1989).

Превалирующими ФЛ фракциями в мышцах были ФХ и ФЭА у мальков люмпена из исследуемых биотопов (табл. 2). Выявленные различия фосфолипидных спектров (ФХ, ФЭА, ФИ, ФС, ЛФХ) в мышцах у молоди из трех исследованных биотопов указывают на участие мембранных липидов в компенсаторных реакциях организма рыб к данным условиям с разными трофо-экологическими условиями их обитания (скорость потока, особенности питания, фотопериод). Известно (Leger et al., 1981; Гершанович, 1991), что ФХ и ФИ являются важными ФЛ, обеспечивающими эффективный рост и хорошее физиологическое состояние рыб.

Таблица 2

Содержание индивидуальных ФЛ (% суммы ФЛ) в мышцах и жировом мешке мальков люмпена *L. maculatus* из трех биотопов

Сезон	Лето (Июль, 2007)						
	Биотоп	Исфиорд (*)	Конгсфиорд (^)	V10	Исфиорд (*)	Конгсфиорд (^)	V10
		Мышцы			Жировой мешок		
		% суммы ФЛ					
	ФИ	0,50	2,34*	2,17*	0,18	1,09*	1,10*
	ФС	0,87	1,00	1,11	1,14	1,99*	1,43^
	ФЭА	15,42	20,02*	19,91*	16,53	18,13	9,98*^
	ФХ	81,87	74,47*	75,83*	81,24	75,22	79,80
	ЛФХ	0,22	0,27	0,42*	0,44	0,77	5,55*^
	СФМ	0,33	0,38	0,32	0,05	0,49	2,15*^

Более высокий уровень ФЭА, ЛФХ и ФИ в мышцах мальков из биотопа V10 и Конгсфиорд можно объяснить приспособительной реакцией структурных липидов организма на действие абиотических факторов - активного смешения арктических и атлантических вод в данной акватории, в результате чего изменяется температура и соленость воды. Так, повышение доли ФИ в мышцах мальков может индуцировать активность мембранных ферментов, например комплекса Na/K-АТФ-азы – ключевого фермента осморегуляции, что имеет значение при изменении солености среды (Болдырев, 1985; Болдырев и др., 2006). Хорошо известно, что температура среды у рыб выступает в качестве не только важнейшего экзогенного фактора, влияющего на физико-химические свойства липидов организма, но и так называемого сигнального фактора, меняющего направленность обменных процессов. Наиболее ярко эта связь обменных процессов с температурой среды проявляется у арктических рыб (Лапин, Шатуновский, 1981; Карамушко, 2007), что наблюдалось и в наших исследованиях. Повышенный уровень ЛФХ в мышцах мальков из биотопа V10 был одним из факторов увеличения проницаемости биомембран для ионов и молекул (Грибанов, 1991; Осадчая и др., 2004). Изменение концентрации ЛФХ, как и ФИ в клеточных мембранах происходит под воздействием наружных сигналов (например, при колебании температуры), при этом ЛФХ может быть одним из вторичных мессенджеров передачи сигнала через рецепторы плазматической мембраны для модификации липидного бислоя мембраны и регуляции мембраносвязанных ферментов (Проказова и др., 1998; Кулагина и др., 2004).

Общей характеристикой ЖК состава мышц и липидного мешка мальков люмпена из трех биотопов летнего сезона является преобладание МНЖК (до 58 % и 69 % суммы ЖК, соответственно), а ПНЖК составляли до 30 % и 23 % суммы ЖК, соответственно. Было установлено, что доминирующими в сумме МНЖК в мышцах и липидном мешке мальков являются 20:1(n-9) и 22:1(n-11) причем, уровень первой ЖК превалирует в мышцах, а второй - в липидном мешке. У пелагических рыб синтез жирных кислот C20 и C22 не выявлен, поэтому считается, что в организме рыб они появляются с пищей (Sargent et al., 1989; Falk-Petersen et al., 1990). Известно, что они могут синтезироваться *de novo* только растительными видами *Calanus*, поэтому их можно считать биомаркерами этих организмов (Falk-Petersen et al., 1990; Graeve et al., 2004; Graeve et al., 2008).

Уровень моноеновых 20:1(n-9), а также 16:1(n-7) ЖК различался только в жировом мешке у рыб из разных биотопов: более высокое количество этих кислот отмечено в мешке у молоди из биотопов Исфиорд и Конгсфиорд по сравнению с таковым у молоди из открытого биотопа V10 (табл. 3). Известно, что в диатомовых водорослях и динофлагеллятах (фитопланктон) 16:1(n-7) ЖК является биомаркером и в разных концентрациях встречается в зоопланктоне с момента начала питания до момента снижения биопродуктивности фитопланктона (осенью). Поэтому различия в уровне этих кислот у рыб из разных биотопов объясняются более благоприятными условиями их синтеза и передачи по трофической цепи внутри фиордов, по сравнению с открытым морским биотопом (V10). Моноеновые 20:1(n-9), 22:1(n-11) ЖК у мальков с меньшей вероятностью используются как структурные компоненты по сравнению с их запасной функцией, что определяется особенностями их физико-химических свойств. Включение этих цепей в образование липидной матрицы сильно понижает жидкость мембраны, вследствие более высокой температуры плавления этих кислот, поэтому включение этих ЖК в липидный бислой мембраны крайне невыгодно для организма малька. Накопление специфических кислот такой структуры является одной из главных особенностей рыб арктического и антарктического региона, наряду с другими признаками.

Таблица 3

Содержание отдельных ЖК (% суммы ЖК) в мышцах и жировом мешке мальков люмпена *L. maculatus* из трех биотопов

ЖК/ Биотоп	Исфиорд (*)	Конгсфиорд (^)	V10	Исфиорд (*)	Конгсфиорд (^)	V10
	Мышцы			Жировой мешок		
	% суммы ЖК					
16:0	13,39	12,48	12,09	5,56	7,92	9,81*^
16:1(n-7)	5,86	6,21	6,05	8,11	8,41	6,65*^
18:1(n-9)	6,80	6,18	6,01	5,03	4,54*	5,43
22:1(n-11)	15,48	13,93*	10,27*	19,17	19,80	16,59*^
20:1(n-9)	19,55	18,32	19,93	27,89	23,73	20,27*^
20:4(n-6)	0,29	0,42	2,72*	0,17	0,18	0,17
20:5(n-3)	4,43	6,62*	7,88*	4,07	4,64	4,01
22:6(n-3)	5,21	8,26	5,68^	3,87	3,94	4,91

Установлено, что в мышцах и жировом мешке молоди люмпена из всех исследованных биотопов 20:5(n-3) и 22:6(n-3) кислоты были преобладающими среди ПНЖК (n-3) семейства, а 20:4(n-6) – в ПНЖК (n-6) семейства. При этом достоверные различия по содержанию 20:5(n-3), 22:6(n-3), 20:4(n-6) кислот обнаружены для мышц мальков из раз-

ных биотопов (табл. 3). Повышенный уровень этих кислот, которые имеют пищевое происхождение в мышцах мальков люмпена из Конгс-фиорда и V10 коррелирует с повышением доли ФХ и ФИ. Для морского зоопланктона эссенциальными считаются 20:5(n-3) и 22:6(n-3) кислоты, которые они получают при питании фитопланктоном, и поэтому повышение транспорта энергии (в форме ЖК) от первичных продуцентов к консументам (молодь люмпена) может быть связано с высоким содержанием 20:5(n-3) в фитопланктоне (Muller-Narvarra, 2000; Møller, 2006). Согласно ряду работ (Рабинович, Рипатти, 1994; Рабинович, 2008), одна из основных функций 22:6(n-3) и других цепей ПНЖК состоит в термостабилизации «липидной рубашки» встроенных в мембрану ферментов, способствующей поддержанию условий их оптимального функционирования. В рамках данного предположения можно объяснить более высокий уровень 22:6(n-3) и других ПНЖК у молоди из этих двух биотопов связью с повышенной двигательной активностью в результате особенностей гидрологического режима акваторий (течения, глубина). Также показано, что 22:6(n-3) и 20:4(n-6) кислоты играют существенную роль в регуляции активности нервных клеток, в формировании зрительной системы у рыб (Bell et al., 1995; Hwang, 2000). Поэтому малькам люмпена, обитающих в поверхностных слоях, очень важно быстро реагировать на приближение хищников, осуществлять поиск пищи, а также ориентировать тело в условиях течения и ледового покрова. Уровень 20:4(n-6) ЖК может также повышаться в условиях высокой солености (Гершанович и др., 1991; Сергеева, Варфоломеева, 2006).

Таким образом, количественные различия как структурных, так и запасных липидов и их ЖК радикалов в мышцах и липидном мешке мальков из трех арктических биотопов могут быть вызваны рядом причин: поступлением с пищей (ее количеством, видовым составом, доступностью), температурными условиями, гидрологическим режимом (скоростью течения и т. д.), модификацией биомембран, вызванных усилением той или иной физиологической функции (двигательная активность в поисках пищи или избегании хищников).

3.2. Содержание общих липидов, индивидуальных фосфолипидов и жирных кислот в мышцах, печени и гонадах взрослого люмпена пятнистого из трех разных биотопов (KB1, KB3, V10) северо-западного побережья о. Шпицберген и их роль в биохимических адаптациях

Содержание отдельных липидных компонентов в органах взрослого бентосного люмпена варьировало в зависимости от физиологического состояния и донных трофо-экологических условий среды.

Было установлено, что в гонадах самок люмпена из трех биотопов накапливается до 63 % (сухого вещества) липидов, в печени - до 38 % (сухого вещества) и наименьшее количество липидов запасается в мышцах – до 10 % (сухого вещества) (рис. 2). Повышенный уровень ОЛ в гонадах отражает процесс их запасаения в ооцитах для последующего развития эмбрионов и личинок в

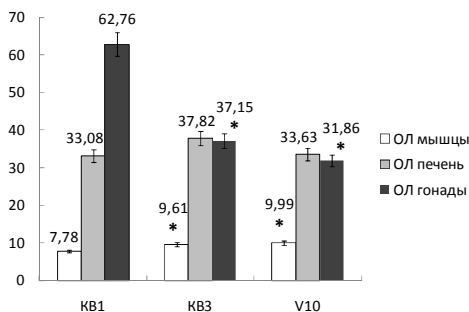


Рисунок 2. Содержание ОЛ (% сухого вещества) в мышцах, печени и гонадах люмпена *L. maculatus* из трех биотопов.

Примечание, здесь и далее: по оси абсцисс – название биотопа; по оси ординат - % сухого вещества. * - различия достоверны у рыб из KB1 и KB3; ^ - различия достоверны у рыб из KB3 и V10.

довольно суровых условиях среды (выклев происходит зимой) (Rothchild, 2003; Перевозчиков, 2008). Печень является основным органом метаболизма липидов, как для своих собственных мембран, так и для других органов и тканей, в том числе и для гонад. Содержание ОЛ в печени люмпена (при III стадии развития гонад) из разных биотопов не различалось, что свидетельствует об относительной стабильности этого липидного компонента в данный период (лето). Более высокое содержание ОЛ в печени по сравнению с мышцами рыб свидетельствует о ее депонирующей функции в организме и интенсивности процессов, протекающих в ней в период роста гонад. При этом содержание ОЛ в мышцах люмпена из трех биотопов различалось (рис. 2), что может быть связано с вариациями в спектрах питания и доступности корма, а также с особенностями мест обитания рыб (температура, глубина, давление, течение). Установлено, что температура и давление (глубина) – два экологических фактора, которые оказывают наибольшее влияние на донные организмы. При этом механизм их действия одностороннен - у большинства гидробионтов адаптации проявляются в накоплении липидов в их теле. В гонадах отмечалась обратная корреляция по сравнению с мышцами: более низкое количество ОЛ у рыб из биотопов KB3 и V10, чем таковое у особей из биотопа KB1. Различное количество ОЛ в гонадах люмпена связано с неодинаковой степенью развития гонад у самок из трех биотопов в результате действия разных трофо-экологических условий.

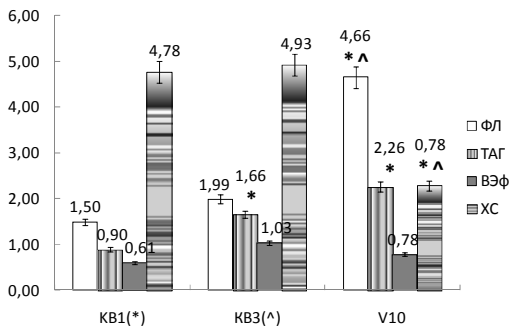


Рисунок 3. Содержание ФЛ, ТАГ, ВЭф, ХЛ (% сухого вещества) в мышцах взрослого люмпена *L. maculatus* из трех биотопов.

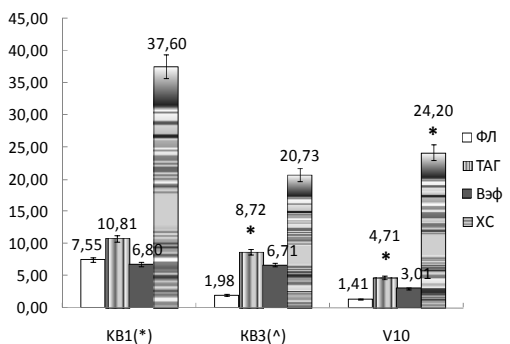


Рисунок 4. Содержание ФЛ, ТАГ, ВЭф, ХЛ (% сухого вещества) в гонадах взрослого люмпена *L. maculatus* из трех биотопов.

биотопа KB1 (рис. 3), что свидетельствует об их пониженной двигательной активности на дне биотопа и подтверждает неактивную роль мышц в депонировании липидов. В гонадах взрослого люмпена пятнистого из разных биотопов преобладали структурные липиды, при этом доля ХС в гонадах была значительно выше, чем ФЛ (рис. 4). На этапе вителлогенеза происходит активное формирование желточных глобул, которые начинают агрегироваться в желток. Установлено, что многие стеринины,

ФЛ и ХС доминировали в липидах мышц (рис. 3), при этом количество ФЛ было выше, а ХС ниже у рыб из биотопа V10, чем таковые у особей из KB1 и KB3. Соответственно, ниже соотношение ХС/ФЛ (0,49) было у рыб из биотопа V10, чем у особей из KB1 и KB3 (3,19 и 2,48). Установлено, что для холодноводных рыб одним из вариантов температурной адаптации является синтез ФЛ и ХС, в результате чего их количество в тканях повышается, что увеличивает устойчивость особей к действию низких температур. Также не исключено влияние на метаболизм липидов повышенного давления и течений, которые вызывают суточную флуктуацию температур в биотопе V10. Доля запасных липидов в мышцах рыб была незначительной (по сравнению с ХС и ФЛ). У особей из биотопов KB3 и V10 она была выше, чем у рыб из

включая ХС, запасаются в ооците во время вителлогенеза, часто совместно с желточным белком – вителлогенином, который вырабатывается в печени и транспортируется в комплексе с липидами к ооцитам, затем поглощается ими с помощью мембранных рецепторов (Chen et al., 1997; Sappington et al., 1996; Перевозчиков, 2008). Изменением уровня ХС и соотношения ХС/ФЛ достигается вязкость мембраны, оптимальная для поступления необходимых компонентов внутрь ооцита в период роста гонад (летний сезон – июль). Гистологические исследования ооцитов выявили увеличение размера радиальной мембраны, каналы которой становятся хорошо видимыми в световой микроскоп. Утолщение и увеличение радиальной мембраны приводит к тому, что необходимые компоненты, в частности, вителлин, синтезируемый в печени, вместе с током крови доставляется к ооцитам и далее по каналам мембраны поступает внутрь ооцита.

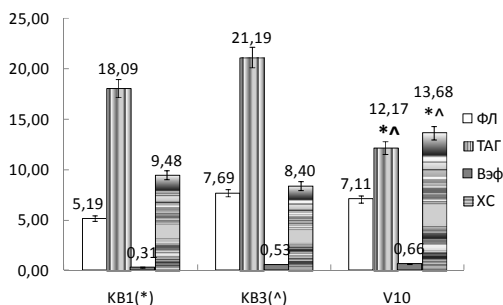


Рисунок 5. Содержание ФЛ, ТАГ, ВЭф, ХЛ (% сухого вещества) в печени взрослого люпена *L. maculatus* из трех биотопов.

то) крупных жировых капель, которые представлены запасными липидами (ТАГ, а также ВЭф). Величина этих капель иногда достигала 1/2 размера гепатоцита, что приводило к смещению ядра клетки печени к периферии. Печень взрослых особей из разных биотопов различалась по уровню ТАГ (рис. 5): более низкий уровень ТАГ отмечался в печени у рыб из биотопа V10, что может быть связано с более высокой интенсивностью окислительного обмена у них вследствие некоторых отличительных гидрологических особенностей (течения, вертикальная циркуляция воды) этого биотопа. При этом в печени рыб из биотопа V10 установлено более высокое содержание ХС и соотношения ХС/ФЛ (1,9), что свидетельствует о стабилизации биомембран, влияющей на

У большинства рыб печень является основным органом метаболизма липидов, которые в виде липопротеидов переносятся плазмой крови к другим органам и тканям. Печень взрослого люпена выполняет функцию депо энергетических липидов (ТАГ). Они частично регулируют плавучесть рыб при отсутствии плавательного пузыря. Гистохимические исследования подтвердили наличие в гепатоцитах печени люпена (ле-

уменьшение подвижности жирнокислотных остатков в молекулах ФЛ (Алимова и др., 1975; Степанов и др., 1991). Накопление ХС в печени может быть направлено на снижение окисляемости мембранных липидов, особенно при дефиците антиоксидантов в условиях ограниченной освещенности и флуктуаций температур в биотопе V10. Это можно отнести к защитным механизмам гидробионтов.

При изучении ФЛ спектров мышц, печени и гонад взрослого люмпена из трех биотопов были отмечены наибольшие вариации в отношении ФИ и ЛФХ: уровень ФИ был ниже во всех органах у рыб из биотопов KB3 и V10, а доля ЛФХ была выше в мышцах и гонадах по сравнению с таковыми из биотопа KB1. ФИ как и другие кислые ФЛ (например, ФС) принимают участие в функционировании ферментных комплексов (Na,K-АТФ-азы), связанных с осморегуляцией (Мирсалихова, Рахимов, 1977; Stekhaven, Bonting, 1981). Снижение доли ФИ во всех органах люмпена из биотопов KB3 и V10 может указывать на снижение активности комплекса Na/K-АТФ-азы – фермента осморегуляции, что имеет значение при изменении солености среды (Stekhaven, Bonting, 1981; Болдырев, 1985; Болдырев и др., 2006). Различия в содержании ФИ, возможно, является приспособительной реакцией организма, связанной с регуляцией внутриклеточного обмена кальция, реакцией клеток на внеклеточные сигналы, в которых участвует ФИ и его производные (Швец и др., 1987; Крутецкая, Лебедев, 1992; Bone, 1998; Радченко и др., 2005; Mayzaud et al., 2007). Повышенный уровень ЛФХ в мышцах и гонадах люмпена в биотопов KB3 и V10 является одним из показателей, указывающих на снижение микровязкости и увеличение проницаемости биомембран для ионов и молекул (Грибанов, 1991; Осадчая и др., 2004). Известно, что ЛФХ выполняет регуляторные функции, зависящие от его концентрации, и оказывает модулирующий эффект на активность мембраносвязанных ферментов (Дятловицкая, Безуглов, 1998; Коломийцева и др., 2003).

Сдвиги в составе ЖК имеют важное адаптационное значение, как компенсаторная реакция организма, обеспечивающая сохранение мембранными липидами их физико-химических свойств. Установлена общая тенденция доминирования МНЖК и ПНЖК у взрослых рыб в мышцах, печени, гонадах и у мальков в мышцах, липидном мешке. В исследованных органах взрослых рыб из трех биотопов преобладала другая группа пищевых МНЖК - 18:1(n-9), 18:1(n-7) и 16:1(n-7), что указывает на смену объектов питания взрослого люмпена. Основным источником, определяющим специфический спектр ЖК липидов донных рыб, является ЖК состав организмов предыдущих трофических уровней (Graeve et al., 1997;

Mayzaud et al., 2007). Известно, что в общем спектре питания молоди люмпена присутствуют копеподы (Falk-Petersen et al., 2005), а у взрослой рыбы – полихеты (Ottesen, unpubl.), у отдельных видов - амфиподы, мизиды, декаподы (Markevich, 2004). Донные виды рыб, в том числе люмпен пятнистый, отличаются способностью максимально переваривать и усваивать компоненты, поступающие с пищей для более полного получения энергии (Drazen et al., 2007). Это необходимо для существования в суровых условиях среды (низкой температуры, пониженной освещенности, короткого периода пищевой обеспеченности). Нами выявлено, что донные взрослые рыбы из разных биотопов имеют достаточно близкие ЖК спектры липидов во всех исследуемых органах, определяемые абиотическими (температура, давление, соленость, освещенность) и биотическими (видовой состав и обеспеченность пищей) факторами.

Таблица 4

Содержание отдельных ЖК (% суммы ЖК) в печени, мышцах и гонадах взрослого люмпена *L. maculatus* из трех биотопов

ЖК/ Биотоп	КВ1 (*)	КВ3 (^)	V10	КВ1 (*)	КВ3 (^)	V10	КВ1 (*)	КВ3 (^)	V10
	Печень			Мышцы			Гонады		
16:0	12,62	14,53	13,30	16,83	16,97	17,71*^	11,76	16,68*	15,07*
16:1(n-7)	17,90	20,59*	16,04^	11,06	12,30	11,90	13,91	20,67*	19,28*
18:1(n-9)	16,20	9,99*	14,27^	13,25	8,08*	13,73^	15,13	20,69*	21,15*
18:1(n-7)	10,24	12,14*	8,69*^	5,37	7,34	4,35	4,60	3,99	3,10
20:1(n-9)	1,30	1,13	1,70^	1,99	1,32	2,90^	1,03	2,52*	1,07^
22:1(n-11)	2,12	8,58*	7,01*	1,81	2,27	2,00	2,05	2,55	0,40*^
20:4(n-6)	0,52	1,07*	2,43*^	2,50	2,60	2,81	0,90	1,32	1,06
20:5(n-3)	4,01	10,82*	8,81	13,93	12,54	13,79	10,01	4,98*	13,00^
22:6(n-3)	2,93	2,46	6,58*^	7,98	10,41	10,39	5,23	2,60*	3,23*^

Известно, что наибольшие вариации в условиях низких температур характерны для 18:1(n-7), 18:1(n-9) ЖК, которые являются наиболее важными при температурных адаптациях холодноводных рыб. Имеются данные, что в общем ЖК составе липидов (особенно, ТАГ или ВЭф) с увеличением глубины обитания рыб повышается относительное содержание 18:1 ЖК и соотношение МНЖК и ПНЖК (Лапин, Шатуновский, 1981). Это было установлено и в нашем исследовании.

Среди основных ПНЖК (n-3) семейства во всех исследованных органах донных особей люмпена превалировали две кислоты линоленового ряда – ЭПК и ДГК (табл. 4), которые являются для морских гидробионтов эссенциальными и поступают с пищей, обеспечивая разные адаптационные функции клетки (Забелинский и др., 1995). Показано, что уро-

вень 20:5(n-3) и 18:1 ЖК отдельных ФЛ повышается у холодноводных рыб, что является наиболее важным для температурных адаптаций (Забелинский и др., 1995). Было установлено, что уровень 20:5(n-3) ЖК в мышцах, печени и гонадах рыб из биотопов KB3 (более низкая температура) и V10 (повышенная соленость и давление) был больше, чем таковой у особей из биотопа KB1. При этом известно, что уровень ЖК липидов гонад у рыб наименее зависит от состава ЖК пищи (Castell, 1979).

Увеличение количества 22:6(n-3) в мышцах рыб многие авторы связывают с увеличением двигательной активности рыб (Крепс, 1981; Шульман, 1983; Забелинский и др., 1995). На содержание 22:6(n-3) ЖК в липидах рыб оказывают влияние два фактора – уровень естественной подвижности и температура обитания, при этом воздействие первого бывает более сильным, чем второго (Крепс, 1981; Шульман, Юнева, 1990). Нами отмечалось повышение уровня 22:6(n-3) кислоты в мышцах взрослых рыб из биотопов KB1 и V10 в условиях больших глубин, солености и влияния течений. В литературе было показано влияние двух факторов – солености и давления на содержание 22:6(n-3) кислоты (Daikoku et al., 1982; Leray et al., 1984). Воздействие второго фактора, в основном, испытывают глубоководные рыбы, совершающие вертикальные миграции, что характерно для взрослого люмпена. Подобно действию низких температур и увеличению естественной подвижности организма, количество 22:6(n-3) в ФЛ рыб может увеличиваться и при повышении давления, что и было выявлено в печени люмпена из самого глубоководного биотопа V10. Эти изменения могут быть направлены на регуляцию вязкости биомембраны, и соответственно, функциональной активности мембраносвязанных ферментов (Шульман, Юнева, 1990).

Различия уровня 22:6(n-3) ЖК в гонадах самок люмпена из разных биотопов можно связать с разной степенью накопления этой кислоты в структурных и энергетических липидах гонад в период вителлогенеза и некоторыми различиями влияния экологических факторов в биотопах.

Накопление НЖК в органах люмпена представлено так: мышцы – от 25 до 28% суммы ЖК, гонады – от 19 до 26 % и печень – от 18% до 21%. В классе НЖК доминировала пальмитиновая ЖК – 16:0 (табл. 4). Для донных рыб наличие 16:0 ЖК в преобладающих количествах связано не только с синтезом *de novo*, но и с ее накоплением за счет питания донными беспозвоночными, наличие и доступность, которых в пищевых цепях для рыб из трех биотопов различалось.

В целом можно отметить, что на модификацию липидов и отдельных классов ЖК в разных органах взрослого люмпена из трех бентосных биотопов оказывает влияние комплекс абиотических (при этом давление,

температура - главные факторы, а освещенность, соленость, температура (вторичные) и биотических (видовой состав и доступность пищи) факторов бентосных экосистем, степень и характер воздействия которых различался. Накопление и вариации липидов в мышцах особей люмпена связаны в большей степени с влиянием абиотических факторов среды, в то время как различия уровня липидов в печени и гонадах рыб обусловлены, как правило, физиологическим развитием и потребностями организма.

3.3. Сезонная динамика общих липидов в женских гонадах и печени люмпена пятнистого в процессе оогенеза

• Биохимический анализ

В процессе оогенеза качественный и количественный состав общих липидов в женских гонадах и печени изменялся сезонно. Содержание общих липидов в женских гонадах повышалось летом от 62,8% сухого вещества до 78,5% осенью и снижалось до 32,7% зимой. Аналогичная динамика была отмечена для общих липидов печени самок люмпена пятнистого.

В гонадах самок люмпена пятнистого летом доминировали структурные липиды – ФЛ и ХС. Их уровень составлял 62% и 45% суммы липидов, соответственно. Запасные липиды составляли 38% суммы липидов, где 29% и 9% суммы липидов приходилось на ТАГ и ВЭф. Осенью их уровень увеличился до 52% суммы липидов, в которых 35% и 17% составляли ТАГ и ВЭф. При этом, содержание ФЛ и ХС осенью составляло 25% и 23% суммы липидов. К зимнему периоду уровень запасных липидов вырос до 58% суммы липидов (34% и 24%, соответственно, составляли ТАГ и ВЭф). Доля ФЛ и ХС в этот период оставалась практически неизменной по сравнению с таковой осенью. Наиболее высокий (2,64) показатель ХС/ФЛ был отмечен летом, к осени и зиме он снизился до 0,92 и 0,75, соответственно.

В печени динамика отдельных классов липидов летом и осенью была такой же, как и в гонадах.

• Гистологический анализ

• ГОНАДЫ

С помощью современных гистологических и гистохимических методик были изучены особенности накопления липидов в гонадах и печени самок люмпена. Выявлены 3 фазы развития ооцитов самок *L. maculatus*, выловленных в разные сезоны года: арктическая зима, лето и осень.

Наши наблюдения по развитию ооцитов начинаются со второй стадии фазы первичного роста, которая была описана для яичников самок люмпена пятнистого, выловленных в зимний арктический период (апрель). Ооциты имеют округлую форму с ядром в центральном положении. Ли-

липидных образований в ооцитах ранних стадий развития не обнаружено. Фаза вторичного роста или превителлогенез, которая делится на два периода: формирования кортикальных альвеол и формирования липидных капель. Это характерно для ооцитов самок люмпена пятнистого из летнего сезона (июль). Липидные капли уже обнаруживаются на этапе формирования кортикальных альвеол и представляют собой мелкие вкрапления в ооплазме. Следующий период превителлогенеза - это формирование

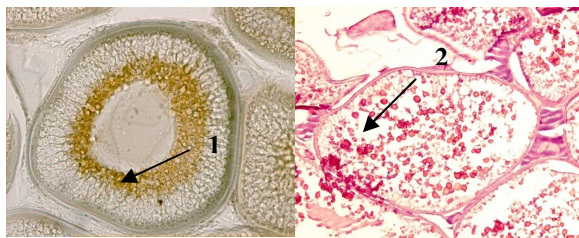


Рисунок 6. Ооциты люмпена на фазе превителлогенеза (слева) и вителлогенеза (справа). Примечание: Стрелка 1 – «кольцо» из липидных капель; Стрелка 2 – желточные гранулы. Окраска: Судан III (слева) гематоксилин-эозин (справа). Ув.: ок. 10 x об. 40 (слева), ок. 10 x об. 10 (справа).

липидных капель (рис. 6). Вначале липидные капли располагаются по периферии ооплазмы или хаотично в ооплазме, после увеличения размера этих капель они перемещаются ближе к центру ооцита и образуют тонкое «кольцо» вокруг ядра. Это «кольцо» утолщается по мере увеличения числа липидных капель

в клетке (рис. 6, слева). Результаты гистохимии показали, что каждая отдельная липидная капля имеет мембрану, где доминируют липиды полярной группы – ФЛ и ХЛ. Внутреннее содержимое капли - это, в основном, липиды нейтральной группы – ТАГ, ВЭф.

Следующая стадия развития ооцитов – вителлогенез (рис. 6, справа). Она была зафиксирована в ооцитах самок люмпена летнего сезона (июль). Происходит увеличение размера ооцитов как следствие того, что на этой стадии идет образование желтка или вителлогенина.

Поздний вителлогенез и стадия созревания ооцитов описаны для самок люмпена пятнистого из осеннего сезона (октябрь). Гранулы желтка располагаются в центральной части ооцита. При этом особенностью яиц бентосного люмпена можно считать формирование из отдельных липидов большой липидной капли или нескольких капель меньшего размера на аномальном полюсе ооцита.

• ПЕЧЕНЬ

При гистологическом исследовании структуры печени самок люмпена пятнистого были отмечены сезонные вариации в зимний (апрель), летний

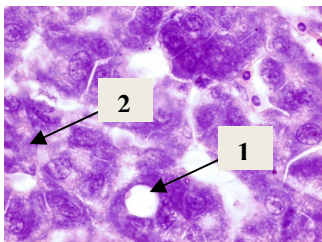


Рисунок 7. Печень взрослого люмпена (лего). Примечание: 1 – адипоцит; 2 – липидная капля в гепатоците. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув.: ок. 10 х об. 100

(июль) и осенний (октябрь) периоды. Печень *L. maculatus* очень богата липидами, которые представлены в ней в форме липидных капель разного размера внутри гепатоцитов (рис. 7). Доминирующим компонентом липидных капель гепатоцитов были ТАГ. Мембраны липидных капель состоят в основном из полярных липидов.

Результаты гистоморфологического и биохимического анализов ооцитов и печени самок люмпена зимнего, летнего и осеннего арктического сезонов показали, что общий ход оогенеза люмпена пятнистого не отличается от такового, описанного для других видов костистых рыб. В течение оогенеза накопление структурных и запасных липидов в гонадах и печени самок люмпена изменялось сезонно с тенденцией увеличения количества ОЛ к осени. Причем, соотношение ХС/ФЛ также изменялось. Основываясь на полученных результатах, можно предположить, что период икротетания у люмпена пятнистого наступает в конце осени (ноябрь) или имеет место в начале зимы (декабрь) на меньших глубинах, чем обычно обитают взрослые особи.

ВЫВОДЫ:

1. Обнаружены существенные различия в содержании общих липидов и их компонентов в органах взрослых особей люмпена пятнистого, обитающих в разных по экологическим условиям биотопах о.Шпицберген. Доля структурных липидов по сравнению с энергетическими в органах исследуемых рыб понижается, что связано с активными вертикальными, горизонтальными передвижениями и другими особенностями двигательной активности в условиях повышенного давления на глубине.

2. Относительные различия количества индивидуальных фосфолипидов, главным образом, фосфатидилинозитола и лизофосфатидилхолина во всех органах донных особей люмпена пятнистого связаны с биохимическими адаптациями, которые направлены на поддержание оптимальной работы различных ферментных систем биомембран в сложившихся условиях обитания (давление, солёности среды, температуры), в частности - ферментов осморегуляции.

3. Содержание моноеновых жирных кислот 18:1(n-9), 18:1(n-7), 16:1(n-7) и полиеновой жирной кислоты 20:5(n-3) во всех тканях и органах

взрослого люмпена пятнистого является доминирующим и непосредственно коррелирует с жирнокислотным составом пищи.

4. Содержание полиненасыщенной кислоты 22:6(n-3) в составе мышц взрослых особей глубоководных биотопов повышено по сравнению с печенью и гонадами. Это свидетельствует об адаптации на биохимическом уровне при повышенной двигательной активности в условиях поиска пищи в толще воды и в период икрометания.

5. Оогенез люмпена пятнистого не отличается от других костистых рыб. Преобладание структурных липидов над энергетическими в гонадах связано с вителлогенезом. Развитие гонад сопровождается накоплением липидов в печени в период арктического лета и зависит от трофо-экологических условий среды. Доминирование запасных липидов в печени люмпена пятнистого (по сравнению с мышцами и гонадами) свидетельствует об основной функции печени как жирового депо.

6. Не обнаружено различий в содержании общих липидов мышц и липидного мешка пелагической молоди (мальков) люмпена пятнистого из трех арктических биотопов. Липидные и жирнокислотные составы мышц и липидного мешка различаются и качественно, и количественно: в жировом мешке накапливаются исключительно триацилглицерины – (58% сухого вещества), в мышцах – триацилглицерины (14%) и восковые эфиры (2%). Это обусловлено важной ролью жирового мешка как энергетического депо, а также фактора поддержания плавучести для развивающегося пелагического малька. Жировой мешок в отличие от мышц не содержит холестерина, последний служит средством модификации проницаемости функционирующей мембраны. В жирнокислотном спектре мышц и липидного мешка мальков доминируют кислоты 20:1(n-9) и 22:1(n-11). Это связано с аналогичным составом жирных кислот *Calanus* spp., являющегося основным объектом питания.

7. Основная роль липидов и липидных компонентов в органах и тканях мальков и взрослых особей люмпена пятнистого заключается в участии в механизмах адаптивного ответа, развивающегося в ходе приспособления этого вида к арктическим условиям существования.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. С.А. Мурзина, З.А. Нефедова, Т.Р. Руоколойнен, О.Б. Васильева, Н.Н. Немова. Динамика содержания липидов в процессе раннего развития пресноводного лосося *Salmo salar* L. // Онтогенез. – 2009. – Т. 40. – № 3. – С. 208-214.

2. С.А. Мурзина, Н.Н. Немова, З.А. Нефедова, С. Фальк-Петерсен. Влияние экологических условий обитания люмпена пятнистого *Leptoclinus maculatus* на липидный состав печени и мышц // Экология. – 2010. – Т. 41. – № 1. – С. 51-54.

3. **Murzina S.A.**, Nemova N., Nefedova Z.A. Lipids in early embryogenesis of Atlantic salmon *Salmo salar* // Balancing human use and ecosystem protection. Abstracts of the international conference «Arctic frontiers». 21-26 January 2007. – Tromsø, 2007. P. 111.

4. **Murzina S.**, Ottesen C.A., Falk-Petersen S. Life history and lipids of the Arctic fish species *Leptoclinius maculatus* // Challenges for oil and gas development in the Arctic. Abstracts of the international conference «Arctic frontiers». 20-25 January, 2008. – Tromsø. 2008. P. 156.
5. **Murzina S.A.**, Nefedova Z., Falk-Petersen S., Nemova N.N. The lipid biochemistry of *Leptoclinius maculatus* // Arctic marine ecosystems in an era of rapid climate change. Arctic Ocean Governance. Abstracts of the international conference «Arctic frontiers». 18-23 January, 2009. – Tromsø, 2009. P. 131
6. Martynova D.M., Kazus N.A., Kutcheva I.P., Mingazov N.P., **Murzina S.A.**, Usov N.V. New insights on the life cycle strategy of *Calanus gracialis* in the White sea (660N) // Arctic marine ecosystems in an era of rapid climate change. Arctic Ocean Governance. Abstracts of the international conference «Arctic frontiers». 18-23 January, 2009. – Tromsø, 2009. P.59.
7. **Мурзина С.А.** Липидный статус рыб и кормовых объектов в условиях Арктики на примере морской рыбы *Leptoclinius maculatus* (люмпен пятнистый) // «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов»: матер. 2-ой науч. конф. с участием стран СНГ, Петрозаводск, 11-14 сентября 2007 г. – Петрозаводск, 2007. – С. 102-103.
8. **С.А. Мурзина**, Н.Н. Немова, З.А. Нефедова, С. Фальк-Петерсен. Исследование особенностей накопления запасных липидов в органах арктического вида *Leptoclinius maculatus* // Всерос конф. с междунар. участием «Северные территории России: проблемы и перспективы развития»: матер. конфер Архангельск, 23-26 июня 2008. – Архангельск: Институт экологических проблем Севера УрО РАН, 2008. – С. 932-935.
9. **Мурзина С.А.**, Нефедова З.А., Немова Н.Н. Липидный статус атлантического лосося *Salmo salar L.* в процессе эмбрионального развития, на этапе пигментации глаз // IV съезд Российского общества биохимиков и молекулярных биологов. – Новосибирск, 2008. – С. 170.
10. **S.A. Murzina**, N.N. Nemova, S. Falk-Petersen. Life history and lipids of the Arctic fish species *Leptoclinius maculatus* // «Polar Research – Arctic and Antarctic perspectives in the International Polar Year» Abstract volume. SCAR/IASC IPY Open science conference. Saint Petersburg, Russia, July 8-11, 2008. – St.-Petersburg, 2008. P. 261.
11. **Svetlana A. Murzina**, Stig Falk-Petersen, Jørgen Berge, Nina N. Nemova. Geographic dynamic of lipid content larvae daubed shanny *Leptoclinius maculatus* (Family: *Stichaeidae*) from Isfjorden and Kingsfjorden, Svalbard // Biological resources of the White sea and inland waters of European North: Proceedings of the XXVIII International conference. October, 5-8, 2009. Petrozavodsk. – Petrozavodsk, 2009. P. 654-657.
12. Camilla Ottesen, **Svetlana A. Murzina**, Haakon Hop, Stig Falk-Petersen. Life history aspects of *Leptoclinius maculatus* (Stichaeidae: Lumpeninae) in Norwegian Arctic waters // Biological resources of the White sea and inland waters of European North: Proceedings of the XXVIII International conference. October, 5-8, 2009. Petrozavodsk. – Petrozavodsk, 2009. P. 657.
13. **Svetlana A. Murzina**, Stig Falk-Petersen, Nina n. Nemova. Lipids in the Arctic fish, *Leptoclinius maculatus* // Chemistry and physics of lipids. – 2008. – V. 154. – S.1. – P. S26.
14. **Мурзина С.А.**, Немова Н.Н., Нефедова З.А. Роль липидов в процессе раннего развития пресноводного лосося *Salmo salar L.* // Биотехнология охраны окружающей среды. Доклады (тезисы) Московского общества испытателей природы. – М.: Гардарики, 2006. – Т. 39. – С. 237-238.
15. **Мурзина С.А.**, Немова Н.Н., Нефедова З.А. Роль липидов в процессе раннего развития пресноводного лосося *Salmo salar L.* // Биотехнология охраны окружающей среды. Доклады (статья) Московского общества испытателей природы. – М.: Гардарики, 2006. – Т. 39. – С. 120-125.
16. **Murzina S.A.**, Falk-Petersen S., Berge J., Nemova N. Lipids in Daubed shanny (*Leptoclinius maculatus*) from Svalbard waters // Living in the High North. 24-29 January 2010. Abstracts of the international conference «Arctic frontiers». – Tromsø, 2010. P. 167.

Формат 60×84 $\frac{1}{16}$. Бумага офсетная. Гарнитура «Times».
Уч.-изд. л. 1,0. Усл. печ. л. 1,0. Подписано в печать 00.01.10.
Тираж 100 экз. Изд. № 90. Заказ № 850.

Карельский научный центр РАН
Редакционно-издательский отдел
185003, Петрозаводск, пр. А. Невского, 50

