

ВОРОНИН

Виктор Петрович

**ЭКОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АДАПТАЦИИ С УЧАСТИЕМ ЛИПИДОВ У
МЕЗОПЕЛАГИЧЕСКИХ РЫБ СЕВЕРНОЙ АТЛАНТИКИ**

1.5.13. – Ихтиология

1.5.4. – Биохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата биологических наук

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

Научный руководитель:	Мурзина Светлана Александровна доктор биологических наук, заведующая лабораторией экологической биохимии Института биологии ФГБУН ФИЦ «Карельский научный центр Российской академии наук»
Официальные оппоненты:	Герасимов Юрий Викторович доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией экологии рыб, заместитель директора по научной работе ФГБУН «Институт внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН»
	Сущик Надежда Николаевна член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, заместитель директора по научной работе Института биофизики Сибирского отделения Российской академии наук – обособленного подразделения ФГБНУ ФИЦ «Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН»
Ведущая организация:	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского Российской академии наук», г. Севастополь

Защита состоится _____ в ____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.109.02 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук по адресу: 119071, г. Москва, Ленинский проспект, д. 33.

Тел/факс: +7(495)952-35-84, e-mail: admin@sevin.ru

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке Отделения биологических наук по адресу: 119071, г. Москва, Ленинский проспект, д. 33, на сайте ФГБУН ИПЭЭ РАН по адресу www.sev-in.ru и на сайте Высшей аттестационной комиссии по адресу: vak.minobrnauki.gov.ru

Автореферат разослан « ____ » _____ 20__ г.

Учёный секретарь диссертационного совета,
к.б.н. Кацман Елена Александровна

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Изучение механизмов, обеспечивающих жизнедеятельность гидробионтов в системе «организм-среда», остается одним из актуальных направлений исследований в области экологии, ихтиологии, гидробиологии, экологической физиологии и биохимии. Мезопелагические рыбы – основные обитатели мезопелагической, или «сумеречной», зоны, условные границы которой составляют от 200 до 1000 метров (Hidalgo, Browman, 2019). Этот слой водной толщи при всей его слабой изученности (Christiansen et al., 2014; Hussey et al., 2017; Wang et al., 2019) рассматривается как перспективный для освоения морских биоресурсов. Мезопелагические рыбы являются активными участниками в процессах перераспределения вещества и энергии от высокопродуктивной эпипелагиали к бати- и абиссопелагиали, тем самым поддерживая т.н. «круговорот углерода» в Мировом океане (Aumont et al., 2018; Caccavo et al., 2021).

Жизнедеятельность глубоководных организмов реализуется в градиентных условиях воздействия комплекса факторов среды, к числу которых относятся прежде всего высокое гидростатическое давление (от 20 до 100 атм.), специфическое освещение – рассеяние 1% проникающего солнечного света и длинноволновая биолюминисценция гидробионтов (Jarina Raihan et al., 2019; Sutton, 2005; Warrant, Locket, 2004), выраженная пространственная неоднородность и доступность пищевых ресурсов, а также температурные вариации в пределах 3,5-6,5°C. Большинство мезопелагических видов мигрируют в эпипелагическую зону ночью с последующим погружением на сотни метров на глубину днём, подвергаясь тем самым сильному компрессионному воздействию (Salvanes, Kristoffersen 2001; Catul et al., 2011). Миграционное поведение рыб – сложное биологическое явление, направленное на обеспечение благоприятных условий существования вида, его воспроизводства, а также на освоение пространства и пищевых ресурсов занимаемого биотопа (Мантейфель, 1960). Способность глубоководных организмов океанических вод осуществлять вертикальные миграции определяется толерантностью вида к действию неоднородных и изменчивых факторов среды. В отдельных исследованиях обсуждаются компенсаторные механизмы и метаболические превращения у мезопелагических гидробионтов, в том числе реализуемых на биохимическом и молекулярном уровнях (Phleger et al., 1999; Sutton, 2005; Catul et al., 2011; Shillito et al., 2020). Липиды и их жирнокислотные компоненты – многофункциональные вещества, которые ввиду своей лабильности вносят значительный вклад в развитие адаптаций водных организмов, направленных на поддержание метаболического гомеостаза и внутренней среды организма (Крепс, 1981; Сидоров, 1983; Hochachka, Somero, 2002; Arts, Kohler, 2009; Murzina et al., 2020; Macdonald, 2021). Известно, что молекулярные формы липидов различаются «энергетической ёмкостью», вкладом в поддержание свойств биомембран, биоэффекторными возможностями, участием в поддержании плавучести организма и др. (Neighbors, 1988; Phleger et al., 1999; Tocher, 2003; Arts et al., 2009; Macdonald, 2021). Несмотря на то, что в литературе имеются отдельные исследования качественного и количественного состава липидов некоторых видов мезопелагических рыб (Joensen, Grahl-Nielsen, 2000, 2001, 2004; Petursdottir et al., 2008a, 2008b), в большинстве из них детальное липидное профилирование не проводилось. Однако подробное знание структуры и изменчивости липидного комплекса крайне необходимо для понимания процессов жизнедеятельности глубоководных рыб в изменчивых и неоднородных условиях среды. Исследование липидного состава мезопелагических рыб с разными стратегиями адаптации позволит изучить толерантность вида к глубоководным условиям обитания и их изменению при вертикальных перемещениях.

Цель исследования

изучить эколого-биохимические адаптации с участием липидов и их жирнокислотных компонентов к глубоководным условиям обитания у мезопелагических видов рыб Северной Атлантики.

Задачи исследования

1. Провести сравнительный анализ качественного и количественного содержания общих липидов, отдельных классов липидов и фосфолипидов, а также жирных кислот от общих липидов и отдельно от фосфолипидов, триацилглицеринов и эфиров холестерина + восков в мышцах для поиска различий на уровне липидного обмена у мезопелагических рыб с разными стратегиями адаптации;
2. Изучить адаптивную роль накопления и вариаций запасных триацилглицеринов, эфиров холестерина и восков в мышцах у вертикально-мигрирующих и немигрирующих рыб;
3. Выявить механизмы реорганизации биомембран мышц с участием структурных фосфолипидов и холестерина при изменении глубины у вертикально-мигрирующих и немигрирующих рыб;
4. Провести качественный и количественный анализ жирных кислот в мышцах мезопелагических рыб для выяснения объектов питания и определения места и роли этих рыб в трофических отношениях гидробионтов;
5. Определить технологическую значимость коммерчески ценного вида мезопелагиали – окуня-клювача (*Sebastes mentella*), а также рыб прилова моря Ирмингера на основании оценки липидного профиля и анализа интегральных метаболических индексов n-3/n-6 полиеновых жирных кислот, атерогенности (IA), тромбогенности (IT), индекса укрепления здоровья (HPI), качества липидов мяса/рыбы (FLQ), гипо- и гиперхолестеринемии (HH).

Научная новизна

Впервые выявлены различия в накоплении резервных классов липидов, молекулярных форм структурных фосфолипидов, а также индивидуальных жирных кислот у 11-ти видов 6-ти семейств массовых и распространённых рыб мезопелагической зоны в море Ирмингера (Северная Атлантика). Особенности накопления и изменения липидов в мышцах позволили подтвердить осуществление вертикальных перемещений у *S. mentella*, *Lampanyctus macdonaldi*, *Symbolophorus veranyi*, *Notoscopelus kroyeri*, *Stomias boa*, *Chauliodus sloani*, *Borostomias antarcticus* и *Serrivomer beanii*, а также отсутствие вертикальных миграций у *Malacosteus niger* и *Scopelogadus beanii*. У вертикальных мигрантов установлены различия в использовании доминирующих классов запасных (энергетических) липидов в адаптациях к глубине.

Впервые показаны выраженные вариации минорных классов липидов (промежуточных продуктов обмена) у вертикально-мигрирующих рыб. Данные изменения могут косвенно свидетельствовать о активных метаболических процессах и их амплитуде, имеющих компенсаторный характер и выражающихся в поддержании гомеостаза внутренней среды организма.

Впервые для самцов и самок окуня-клювача в градиенте глубин показано изменение биомаркерных жирных кислот (cis20:1(n-9) и cis22:1(n-11)) веслоногих рачков рода *Calanus* – значимых видов зоопланктона северных морей. Обнаружено доминирование *C. glacialis* в рационе питания самцов и самок окуня-клювача, а идентификация жирных кислот *C. finmarcticus* у самцов на глубине 650 метров демонстрирует трофическую связь пелагиали и глубоководья.

Для всех исследованных видов впервые идентифицирован широкий спектр минорных жирных кислот (содержание которых в мышцах менее 1%) растительного происхождения. В совокупности со значениями индекса плотности (cis18:1(n-

9)/cis18:1(n-7)), эти кислоты указывают на положение видов рыб в трофической сети не ниже консументов 2-го порядка.

Впервые для исследуемых мезопелагических рыб проведен анализ содержания отдельных ненасыщенных «омега-3-6-9-7» липидов, уникальных композиций индивидуальных жирных кислот, а также метаболических интегральных индексов качества липидов мезопелагических рыб, которые демонстрируют возможность их целевого использования в пищевой, биотехнологической индустрии и аквакультуре.

Теоретическое и практическое значение работы

Полученные результаты имеют фундаментальное значение в развитии теории эколого-биохимических механизмов организменного гомеостаза гидробионтов, на примере мезопелагических рыб, получения новых сведений по основным биохимическим механизмам устойчивости глубоководных организмов в условиях Северной Атлантики, их роли в поддержании круговорота вещества и энергии. Установленный липидный и жирнокислотный состав исследованных мезопелагических видов позволяет также рассматривать их в качестве потенциально значимого сырья для биотехнологической, пищевой промышленности и аквакультуры, а также предложить определенный подбор подходов и протоколов по эффективному выделению отдельных классов липидов и их функциональных соединений. Результаты исследования экологической роли глубоководных видов рыб в функционировании мезопелагической экосистемы Мирового океана могут быть полезны при решении вопросов рационального природопользования и мониторинга состояния морских экосистем, особенно в условиях активного промысла и разработке долгосрочных ресурсных прогнозов.

Методы исследования

Работа включала полевые и экспериментальные (лабораторные) методы исследований. В ходе полевого этапа осуществлён сбор образцов мышечной ткани мезопелагических рыб и их фиксация при -80°C до транспортировки в лабораторию. Лабораторный анализ был выполнен на базе лаборатории экологической биохимии и с использованием оборудования ЦКП ФИЦ «Карельский научный центр Российской академии наук». При проведении липидного анализа были использованы классические методы экстракции (метод Фолча) и хроматографии (высокоэффективная тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография и газовая хроматография) с использованием современного высокочувствительного оборудования, в том числе масс-спектрометрии. Обработка результатов проводилась в специализированном ПО соответствующего оборудования, а также на языке программирования R с применением различных методов разведочного анализа данных, многомерного анализа и машинного обучения.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. На уровне липидного метаболизма толерантность мезопелагических рыб к меняющимся в ходе вертикальных миграций условиям определяется накоплением в качестве энергетического источника мультифункциональных эфиров холестерина и восков с низкой плотностью, а также включением холестерина в мембрану клетки для реорганизации жидкостности клеточной мембраны. Не мигрирующие по вертикали виды рыб характеризуются накоплением исключительно запасных триацилглицеринов в мышцах и реорганизацией мембраны клетки путём варьирования соотношения структурных фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина. Ввиду выраженных различий доминирующих классов запасных липидов, которые отличаются значениями плотности молекул, у вертикально-мигрирующих и немигрирующих рыб, высказывается предположение об участии липидов в механизмах регуляции плавучести у рыб с различающейся двигательной активностью;

2. Механизмы эколого-биохимических адаптаций у мигрирующих и не мигрирующих по вертикали мезопелагических рыб к обитанию на глубине зависят от особенностей липидного обмена организма конкретного вида и его трофических взаимоотношений;
3. Диапазон миграции и изменение пищевого рациона мезопелагических рыб зависят от поступления в организм незаменимых полиненасыщенных жирных кислот, необходимых для поддержания гомеостаза внутренней среды и нормальной работы организма в условиях обитания на глубине.

Степень достоверности результатов

Достоверность результатов подтверждается обеспечением минимально необходимой выборки фактического материала для каждой исследуемой группы веществ при использовании высокочувствительного современного хроматографического оборудования, а также применением сверхчистых референтных веществ и метода масс-спектрометрии при определении качественного состава липидных компонентов. Достоверность также подтверждается использованием общепринятых методов статистической обработки данных, адекватных методов многомерного анализа и машинного обучения, а также отсутствием противоречий между полученными результатами и немногочисленными ранее опубликованными данными.

Апробация работы

Основные результаты диссертационной работы были представлены на 12 международных и российских научных мероприятиях в виде 8 устных и 4 стендовых докладов: на международной конференции «Arctic Frontiers 2020 – The power of knowledge» (г. Тромсо, Норвегия, 2020 г.); V Всероссийском научном форуме «Наука будущего – наука молодых» (г. Москва, Россия, 2020 г.); 6-й Всероссийской научной конференции молодых учёных «Комплексные исследования Мирового океана (КИМО-2021)» (г. Москва, Россия, 2021 г.); Международной научной конференции, посвящённой 150-летию Севастопольской биологической станции – Института биологии южных морей имени А.О. Ковалевского и 45-летию НИС «Профессор Водяницкий» «Изучение водных и наземных экосистем: история и современность» (г. Севастополь, Россия, 2021 г.); Международной конференции «Lipids in the Ocean» (Виртуальная конференция, 2021 г.); 14-ом Международном конгрессе «ISSFAL Virtual 2021» (Виртуальная конференция, 2021 г.); Международной конференции «Новые технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии (NT+ME'22). Весенняя сессия» (г. Гурзуф, Россия, 2022 г.); Всероссийской конференции учёных и специалистов, посвящённой 160-летию Н.М. Книповича (г. Мурманск, Россия, 2022 г.); Международной конференции «Новые технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии (NT+ME'23)» (г. Гурзуф, Россия, 2023 г.); Академическом форуме молодых учёных стран Большой Евразии «Континент науки 2023» (г. Москва, 2023 г.); Международной конференции «Современное состояние водных биоресурсов и аквакультуры» (г. Новосибирск, 2023 г.).

Исследование проводилось при поддержке Гранта Президента РФ для молодых докторов наук МД-5761.2021.1.4 «Эколого-биохимические адаптации с участием липидов и жирных кислот у мезопелагических рыб района Северо-Восточной Атлантики», а также, частично, в рамках государственного задания КарНЦ РАН № 0218-2019-0076 «Биохимические механизмы, определяющие сходство и различия в развитии адаптаций у гидробионтов морских и пресноводных экосистем» и FMEN-2022-0006 «Эколого-биохимические стратегии адаптации природных популяций гидробионтов и объектов аквакультуры в условиях современного изменения климата в норме и при изменении факторов среды с целью обеспечения устойчивого использования водных биологических ресурсов». Работа была поддержана грантами (стипендиями) для молодых ученых Программы Президента РФ и Правительства РФ.

Публикации

По теме исследования опубликовано 20 работ, из них 5 статей в высокорейтинговых научных журналах первого и второго квартиля, в том числе рекомендованных ВАК для публикации результатов научных исследований, 10 тезисов и материалов докладов, а также 5 зарегистрированных результатов интеллектуальной деятельности (базы данных).

Структура и объём диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, четырёх глав (обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования и обсуждения результатов), заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 146 страницах, документирована 34 рисунками и 3 таблицами. Список литературы состоит из 414 источников, из них 345 иностранные.

Личный вклад

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

Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность и признательность за всестороннюю поддержку на всех этапах подготовки работы научному руководителю – д.б.н. Мурзиной Светлане Александровне, а также академику РАН, д.б.н. Немовой Нине Николаевне за научные рекомендации и комментарии при выполнении исследования, а также коллегам, сотрудникам лаборатории экологической биохимии ИБ КарНЦ РАН – к.б.н. Хуртиной С.Н., к.б.н. Руоколайнен Т.Р. за ценные советы, поддержку и помощь в ходе аналитической работы. Также автор выражает признательность д.б.н. Орлову А.М. (ИО РАН), к.б.н. Артеменкову Д.В. (ВНИРО) и судовой команде научно-исследовательского судна «Атлантида» за помощь в проведении полевых работ.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ВВЕДЕНИЕ

В разделе «Введение» дано обоснование актуальности исследования, его новизна, теоретическая и практическая значимость. Сформулированы цель и задачи, приведены методология и методы исследования.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе «Обзор литературы» представлен анализ имеющихся в литературе относительно немногочисленных сведений о биологии, экологии и трофических взаимоотношениях изучаемых представителей семейств Scorpaenidae, Mucrophiidae, Stomiidae, Serrivomeridae, Melamphaidae и Bathylagidae, а также рассмотрена роль липидов и жирных кислот (ЖК) в обеспечении компенсаторных механизмов адаптации к обитанию в экстремальных условиях мезопелагической зоны. Несмотря на значительное количество работ по адаптациям рыб к глубоководным условиям обитания, большинство из них посвящены изучению таковых на физиологическом уровне, тогда как биохимических исследований недостаточно. Описана лабильность метаболизма липидов в зависимости от влияния факторов среды, а также многообразие их молекулярных видов и полифункциональный спектр активности в организме. Обсуждается видоспецифичность синтеза специфических ЖК различными таксономическими группами морских организмов,

что лежит в основе концепции «трофических биомаркеров». Рассмотрена биотехнологическая значимость ЖК для здоровья человека.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В главе «Материал и методы исследования» содержится информация об объектах исследования, районах и глубинах отбора проб, а также описание этапов липидного и статистического анализа, использованных при выполнении работы.

Материал исследования

Сбор образцов мышечной ткани мезопелагических рыб проводился в рамках научно-исследовательских работ в районе регулирования Комиссии по рыболовству в Северо-Восточной части Атлантического океана (НЕАФК), рыболовной зоне Гренландии и исключительной экономической зоне Исландии моря Ирмингера (Северная Атлантика) в летний период (июнь-июль) (Рисунок 1). Отлов рыб проводили на научно-исследовательском судне «Атлантида» путём траления на глубинах 250, 325, 375, 400, 650 и 700 метров, разноглубинным тралом 78.7/416 м (проект 2492–02). Контроль за работой трала осуществляли с применением гидроакустического прибора контроля WESMAR-TCS785 («Western Marine Electronic», США). В местах тралений были выполнены гидрофизические наблюдения за температурой воды, её солёностью и гидростатическим давлением с использованием океанологического комплекса Sea Bird Electronics («Sea-Bird Electronics», США), включающим CTD-профилограф SBE-19plus V2 SEACATplus PROFILER SN 6376 с терминалом управления SBE-33.

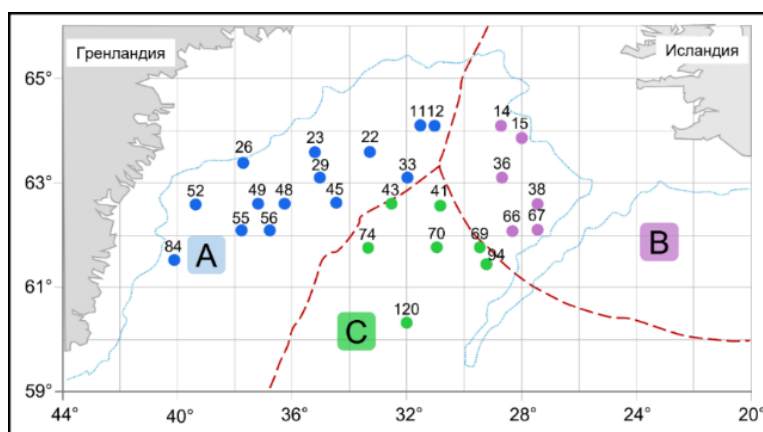


Рисунок 1. Карта-схема района сбора биоматериала мезопелагических рыб для липидного анализа

При сборе материала использовались методы, изложенные в «Руководстве по выполнению Международной глубоководной пелагической экосистемной съёмки в море Ирмингера и сопредельных водах» (ICES, 2015). Видовую идентификацию рыб в уловах осуществляли по рекомендованным определителям (Кукуев и др., 1980; Барсуков и др., 1984; Беккер, 1983; Васьков и др., 2006; Долгов, 2011). Изучался липидный состав именно мышечной ткани, как «модельной» ткани для отслеживания компенсаторных модификаций и изменений, связанных с экзогенными факторами среды, а также используемой в пищевой и биотехнологической промышленности. На биохимический анализ липидов были отобраны 213 образцов мышечной ткани у 11 представителей наиболее ценных и распространённых в море Ирмингера видов рыб (Таблица 1), принадлежащих семействам Scorpaenidae (*S. mentella*), Muctophidae (*L. macdonaldi*, *N. kroyeri*, *S. veranyi*), Stomiidae (*C. sloani*, *S. boa*, *M. niger*, *B. antarcticus*), Serrivomeridae (*S. beanii*), Melamphaidae (*Sc. beanii*) и Bathylagidae (*B. euryops*), большинство из этих видов являются приловом во время

промысловых тралений. По данным литературы наличие вертикальных миграций известно для *S. mentella* (Мельников, 2006), *L. macdonaldi* (Hulley, 1990), *N. kroyeri* (Hulley, 1984), *S. veranyi* (Hulley, 1990), *S. boa* (Gibbs, 1969), *C. sloani* (Eduardo et al., 2020), *B. antarcticus* (Gibbs, 1984), *B. euryops* (Sutton et al., 2008) и *S. beanii* (Cook et al., 2013), тогда как *M. niger* (Kenaley, 2008) и *Sc. beanii* (Gartner, Musick, 1989) вертикально не мигрируют в толще воды.

Таблица 1. Пробы, отобранные на биохимический анализ липидов мезопелагических рыб моря Ирмингера с разных глубин

Вид	п	Глубина, м	Траления*
<i>Sebastes mentella</i>	Самцы	44	250 Тралы 43, 48
		325 Тралы 15, 23, 29	
		375 Тралы 12, 45, 49	
		650 Тралы 69, 74	
		700 Тралы 11, 22, 38, 52, 56	
	Самки	28	250 Тралы 43, 48
		325 Трал 29	
		375 Тралы 12, 33, 49	
		400 Трал 41	
		650 Тралы 69, 74, 94	
700 Тралы 26, 36, 38, 52, 56			
<i>Lampanyctus macdonaldi</i>	15	250 Трал 43	
		375 Трал 52	
		650 Трал 70	
		700 Тралы 36, 38	
<i>Notoscopelus kroyeri</i>	17	250 Трал 43	
		325 Трал 29	
		375 Тралы 52, 66	
		400 Трал 41	
		700 Трал 55	
<i>Symbolophorus veranyi</i>	10	375 Трал 120	
<i>Borostomias antarcticus</i>	17	400 Трал 83	
		650 Тралы 70, 74, 84, 94	
		700 Трал 38	
<i>Malacosteus niger</i>	14	375 Трал 120	
		400 Трал 83	
		650 Тралы 74, 84	
		700 Тралы 14, 67	
<i>Chauliodus sloani</i>	16	250 Трал 43	
		375 Трал 66	
		400 Трал 41	
		700 Тралы 14, 36, 38, 55	
<i>Stomias boa</i>	11	375 Трал 120	
		400 Трал 83	
		650 Тралы 84, 94	
		700 Трал 55	
<i>Serrivomer beanii</i>	16	250 Трал 43	
		375 Трал 52	
		650 Трал 70	

		700	Тралы 36, 38, 55
<i>Scopelogadus beanii</i>	10	375	Трал 120
		700	Тралы 14, 36, 38
<i>Bathylagus euryops</i>	15	250	Трал 43
		375	Трал 52
		650	Трал 70
		700	Трал 36, 38

Примечание: * координаты тралов представлены на Рисунок 1.

Сбор проб рыб из моря Ирмингера был осуществлён в рамках Соглашения о сотрудничестве между Федеральным агентством по рыболовству и Федеральным государственным бюджетным учреждением «Российской академией наук» и основываясь на Программе совместных научных исследований Росрыболовства и Российской академией наук.

Методы исследования

Экстракция липидов

Экстракцию общих липидов (ОЛ) из гомогенизированной мышечной ткани проводили по методу Фолча (Folch et al., 1957) смесью хлороформ-метанол (2:1 об/об).

Определение качественного и количественного состава нейтральных липидов

Качественное и количественное определение нейтральных липидных классов осуществляли методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии. Фракционирование общих липидов проводили на ультратонких пластинках на стеклянной основе – HPTLC Silicagel 60 F₂₅₄ Premium Purity («Merck», Германия). Нанесение 2 мкл пробы на хроматографическую пластинку осуществлялось штриховым методом с использованием полуавтоматического аппликатора Linomat 5 («CAMAG», Швейцария) с последующим фракционированием липидов в камере для элюирования ADC2 («CAMAG», Швейцария) в системе растворителей гексан-диэфиловый эфир-уксусная кислота (32:8:0,8 об/об) (Olsen, Henderson, 1989). Окраска липидных пятен осуществлялась в герметичном дериватизаторе («CAMAG», Швейцария) путём распыления через форсунку 2 мл раствора CuSO₄, подкисленного H₃PO₄, с последующим проявлением окрашенных пятен путём нагревания пластину до 160°C в течение 15 минут. Качественное и количественное определение липидных компонентов проводили в камере денситометра TLC Scanner 4 («CAMAG», Швейцария) в режиме адсорбции при $\lambda=360$ нм (Hellwig, 2005).

Определение качественного и количественного состава полярных фосфолипидов

Качественное и количественное определение полярных ФЛ классов осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием жидкостного хроматографа «Стайер» (ООО «Аквилон», Россия). Фракционирование ФЛ проводили на колонке размером 250 × 4 мм, наполненной сорбентом «Нуклеосил 100–7» («Элсико», Россия). В качестве подвижной фазы была использована система растворителей ацетонитрил-метанол-гексан-85%-ая фосфорная кислота (918:30:30:17,5 об/об, скорость потока – 1 мл/мин). Детектирование анализируемых компонентов осуществляли на встроенном спектрофотометре методом адсорбции в ультрафиолетовой области спектра при $\lambda=206$ нм (Arduini et al., 1996).

Определение качественного и количественного жирнокислотного состава общих липидов и отдельных липидных фракций

Качественный и количественный анализ ЖК ОЛ и отдельных фракций (ФЛ, ТАГ, ЭХС + Воска) осуществляли методом газовой хроматографии (ГХ), сопряжённой с масс-селективным (ГХ-МС) или пламенно-ионизационным (ГХ-ПИД) детектором. Перед анализом смесь ОЛ подвергалась кислотному метилированию для придания ЖК свойств летучести (Цыганов, 1971). Для определения качественного состава полученной смеси метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК) проводили их разделение на ГХ с моноквадрупольным масс-селективным детектором «Маэстро-αМС» («Сайтегра», Россия). Фракционирование осуществлялось в течение 32 минут при градиентном термостатировании на капиллярной колонке HP-88 60 м × 0,25 мм × 0,20 мкм («Agilent Technologies», США) с использованием гелия в качестве подвижной фазы. Детектирование МЭЖК осуществлялось в режиме SIM/SCAN. Полученные данные анализировались с использованием ПО «Маэстро Аналитик v. 1.025» и библиотекой NIST. Далее проводили количественный анализ на ГХ-ПИД «Хроматэк-Кристалл-5000.2» («Хроматэк», Россия) при идентичных условиях, однако с использованием азота в качестве подвижной фазы. Обработка полученных результатов проводилась в ПО «Хроматэк-Аналитик v. 3.0.298.1». Количественный расчёт ЖК проводили методом внутреннего стандарта (22:0) с заранее известной концентрацией.

Качественный и количественный анализ ЖК индивидуальных липидных фракций (ФЛ, ТАГ, ЭХС + Воска) осуществляли идентичным образом с предварительным разделением ОЛ на фракции методом ВЭТСХ. Количественное содержание отдельных ЖК в пробе проводили методом градуировки, где в качестве внешнего стандарта была использована смесь Supelco 37 (Sigma-Aldrich, США) с известными концентрациями.

Расчёт показателей качества липидов и пищевых (биотехнологических) индексов

На основе полученных ЖК профилей мышечной ткани для определения пищевой и биотехнологической значимости мезопелагических рыб рассчитаны следующие индексы: индекс атерогенности (AI); индекс тромбогенности (TI); качество липидов рыбы/мяса (FLQ); гипо- и гиперхолестеринемия (НН); индекс укрепления здоровья (НPI). Анализ изменения данных показателей при длительном хранении продукта проводили на образцах окуня-клювача (*S. mentella*), собранного в рамках МТАС («дикий») и приобретенного в розничной торговле («коммерческий»).

Статистический анализ

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием языка программирования R (версия 4.2.2) с применением методов разведочного анализа данных, многомерного анализа и машинного обучения.

Исследование было выполнено на базе лаборатории экологической биохимии и с использованием оборудования ЦКП ФИЦ «Карельский научный центр Российской академии наук».

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

I. Липидное профилирование мышечной ткани мезопелагических рыб.

Липидомный анализ мышечной ткани исследуемых видов мезопелагических рыб не установил достоверных различий между вертикально-мигрирующими и немигрирующими рыбами по количеству ОЛ, однако были обнаружены некоторые межвидовые различия. Содержание ОЛ у рыб семейства Mucrophidae в среднем по разрезу исследованных глубин (ввиду отсутствия достоверных различий между отдельными глубинами) составило 37,13 и 37,63% сухого вещества (*S. veranyi* и *L. macdonaldi* соответственно), а у Stomiidae – 27,64, 29,21 и 30,99% сухого вещества (*C. sloani*, *M. niger* и *S. boa*, соответственно) (Рисунок 2).

При этом для сем. Mустophidae отмечено наименьшее содержание ОЛ у *N. kroyeri* – 19,9% сухого вещества, а для сем. Stomiidae у *B. antarcticus* – 16,1% сухого вещества. У представителей семейств Bathylagidae (*B. euryops*), Melamphaidae (*Sc. beanii*) и Serrivomeridae (*S. beanii*) содержание ОЛ составило – 18,55, 24,62 и 11,69% сухого вещества, а для окуня-клювача (*S. mentella*, сем. Scorpaenidae) показано самое низкое количество ОЛ – 7,71% сухого вещества.

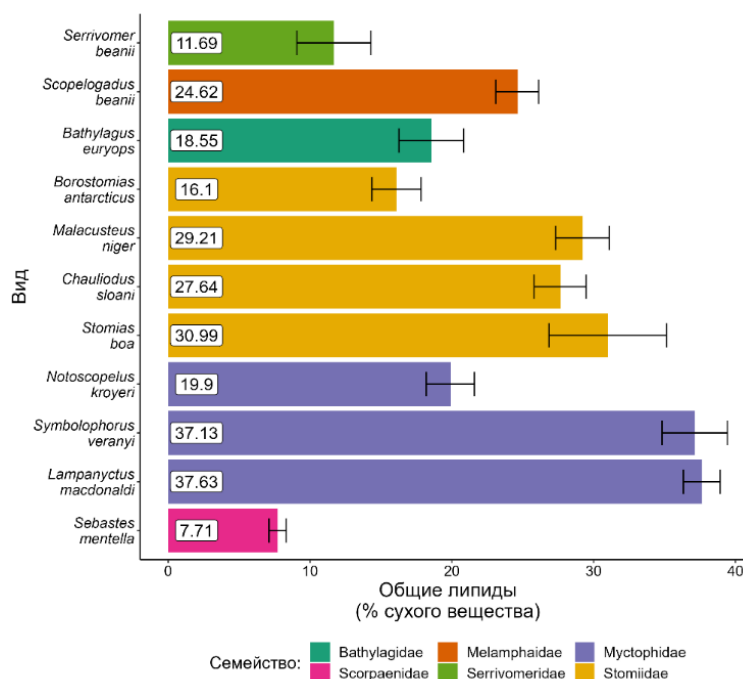


Рисунок 2. Содержание общих липидов (% сухого вещества) в мышечной ткани мезопелагических видов рыб моря Ирмингера (Северная Атлантика)

Анализ динамики липидов в мышцах рыб в исследованном диапазоне глубин показал тренды на снижение содержания ОЛ при увеличении глубины для большинства видов (оценка тесноты корреляционной связи от большего к меньшему): $r = -0,8$ у *S. beanii* (сем. Serrivomeridae); $r = -0,6$ у *L. macdonaldi* (сем. Myctophidae); $r = -0,5$ у *Sc. beanii* (сем. Melamphaidae); $r = -0,4$ у *B. antarcticus* (сем. Stomiidae); $r = -0,2$ у *B. euryops* (сем. Bathylagidae); $r = -0,1$ у *S. mentella* (сем. Scorpaenidae); $r = -0,07$ у *N. kroyeri* (сем. Myctophidae). Однако для двух видов рыб из сем. Stomiidae – *C. sloani* и *S. boa* – установлен иной тренд линейной регрессии, направленный на увеличение количества ОЛ на больших глубинах ($r = 0,3$ для обоих видов). Кроме межвидовых различий выявлены также внутривидовые гендерные различия в трендах накопления ОЛ в мышцах у окуня-клювача (*S. mentella*) – $r = -0,3$ и $0,3$ у самцов и самок соответственно. Для вертикально немигрирующего *M. niger* отмечено сохранение содержания ОЛ в мышцах в диапазоне глубин ($r = 0,003$) и отсутствие направленных регрессий между крайними исследованными глубинами (250 и 700 метров).

Фракционирование ОЛ на индивидуальные классы молекулярных форм липидов и фосфолипидов, а также жирных кислот, позволило выявить сходства и различия в стратегиях эколого-биохимических адаптаций к обитанию на глубине у вертикально-мигрирующих и немигрирующих видов рыб:

1. Неполярные классы липидов

Установлены различия исследуемых видов рыб по количественному содержанию классов неполярных липидов – ФЛ, МАГ, ДАГ, ХС, СЖК, ТАГ, ЭХС, воска (ADONIS – p -value = 0,001; ANOSIM – $R = 0,7162$, p -value = 0,001), среди которых ТАГ, ЭХС и воска

вносят наибольший вклад в разделение видов рыб (Рисунок 3). У вертикально мигрирующих рыб из четырёх разных семейств обнаружено доминирование ЭХС и восков в мышцах: *S. mentella* – 3,02 и 0,59%; *L. macdonaldi* – 7,83 и 12,39%; *B. antarcticus* – 4,11 и 3,9%; *S. beanii* – 3,21 и 0,97% сухого вещества соответственно (Рисунок 4). Для других исследованных видов (*B. euryops*, *C. sloani*, *M. niger*, *N. kroyeri*, *Sc. beanii* и *S. boa*) отмечено накопление запасных ТАГ в качестве основного источника энергии – 7,64, 11,70, 13,40, 7,71, 11,80, 11,30% сухого вещества соответственно. При этом для данной группы видов установлена неоднородность соотношения ТАГ/ЭХС+Воска между вертикально-мигрирующими (*B. euryops*, *C. sloani*, *N. kroyeri*, *S. boa*) и немигрирующими видами (*M. niger*, *Sc. beanii*) – 1,14–1,40 и 1,92–2,02 соответственно.

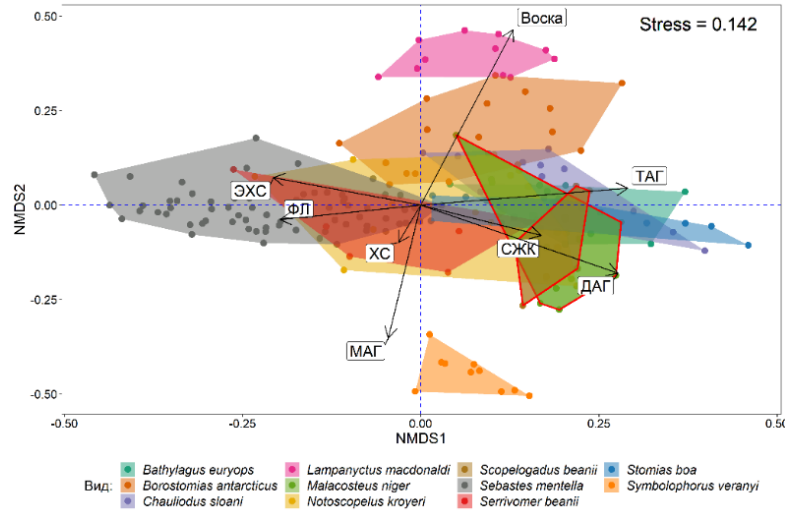


Рисунок 3. Ординация неметрического многомерного шкалирования (NMDS) липидов отдельных классов в мышечной ткани 11 видов мезопелагических рыб, принадлежащих 6 семействам и обитающих в градиенте глубин моря Ирмингера (Северная Атлантика)

Примечание к рисунку: «красным» контуром выделены виды, которые не совершают суточные вертикальные миграции

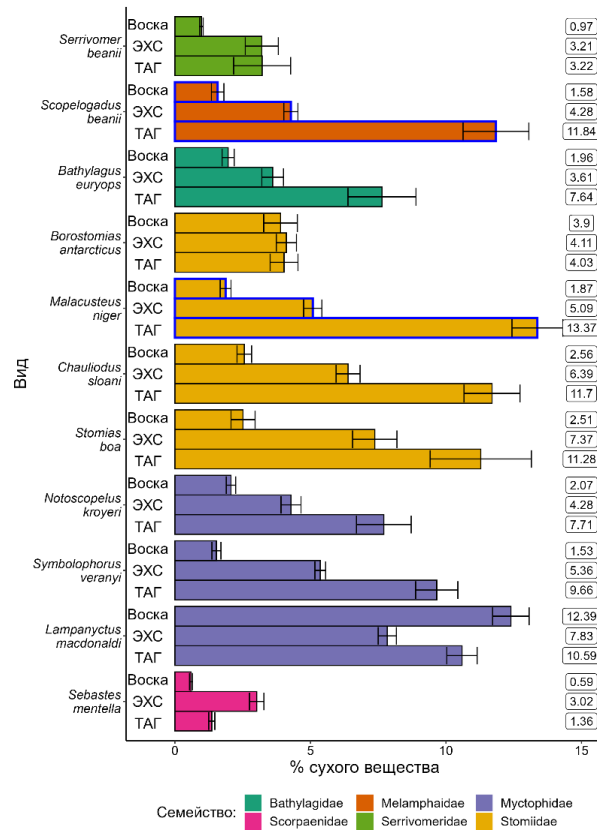


Рисунок 4. Содержание триацилглицеринов, эфиров холестерина и восков у мезопелагических видов рыб моря Ирмингера (Северная Атлантика)

Примечание к рисунку: «синим» контуром выделены виды, которые не совершают суточные вертикальные миграции

С помощью алгоритма канонического анализа соответствий показаны различия влияния абиотических факторов среды (гидростатическое давление, температура, солёность) на содержание классов липидов на разных глубинах. Для глубоководного *B. antarcticus* (сем. Stomiidae) отмечено снижение уровня ТАГ (с 6,70 до 4,31% сухого вещества), а также восков (с 5,32 до 3,08% сухого вещества) и ЭХС (с 5,16 до 4,15% сухого вещества) при увеличении глубины обитания (с 400 до 700 метров), температуры (от 4,7 до 5,0°C) и солёности воды (от 34,90 до 34,94‰). Аналогичная динамика отмечена для другого глубоководного вида – *B. euryops* (сем. Bathylagidae), а также для вертикально-немигрирующего *M. niger* (сем. Stomiidae). Напротив, у мигрирующих *S. mentella* (сем. Scorpaenidae) и *N. kroyeri* (сем. Myctophidae) установлено незначительное накопление ТАГ с глубиной – от 1,07 до 1,35 и от 6,21 до 11,85% сухого вещества соответственно. Для двух представителей семейства Stomiidae (*C. sloani* и *S. boa*) показано значимое влияние на изменение содержания СЖК в мышцах при увеличении глубины обитания, температуры и солёности воды.

2. Полярные классы липидов.

Фракционный анализ структурных липидов позволил установить достоверные различия между видами рыб по содержанию индивидуальных классов ФЛ – ФХ, ФЭА, ФС, ФИ, ЛФХ, СФМ (ADONIS – p -value = 0,001; ANOSIM – R = 0,2988, p -value = 0,001; SIMPER_{ср} = 26%; Рисунок 5) и ХС (от 0,88 до 6,77% сухого вещества) в мышцах. Отмечено, что доминирование ФХ (0,85–4,67% сухого вещества) и ФЭА (0,06–0,42% сухого вещества) является общей характеристикой для всех исследованных видов, тогда как количественное соотношение ФХ/ФЭА – различается.

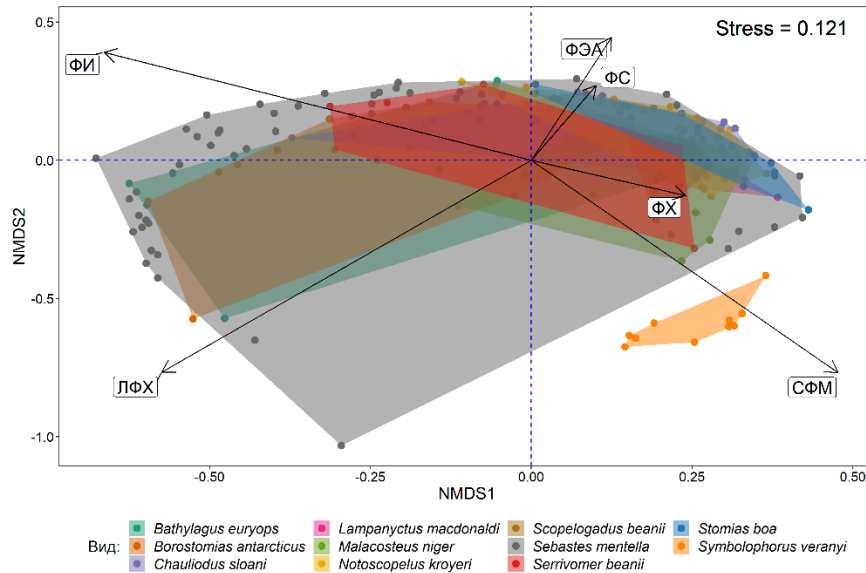


Рисунок 5. Ординация неметрического многомерного шкалирования (NMDS) индивидуальных классов фосфолипидов в мышечной ткани мезопелагических видов рыб, обитающих в градиенте глубин моря Ирмингера (Северная Атлантика)

Для немигрирующих рыб – *M. niger* и *Sc. beanii* – установлен высокий коэффициент ФХ/ФЭА (7,52 и 7,31 соответственно), а соотношение ХС к общим ФЛ близко к 1 (1,07 и 1,01 соответственно). У вертикально-мигрирующих рыб – *S. beanii*, *L. macdonaldi*, *B. antarcticus*, *B. euryops*, *S. boa*, *S. mentella*, *C. sloani*, *N. kroyeri* – коэффициент ФХ/ФЭА варьировал в пределах значений от 3,82 до 5,65, а соотношение ХС/ФЛ различалось в зависимости от доминирующего(их) классов резервных липидов. Так у накапливающих запасные ТАГ представителей семейств Мустофидеи (*S. veranyi* и *N. kroyeri*) и Стомиидеи (*S. boa* и *C. sloani*) коэффициент ХС/ФЛ варьировал от 1,15 до 1,33, а у накапливающих резервные ЭХС и воска *S. mentella* (сем. Скорпаенидеи), *L. macdonaldi* (сем. Мустофидеи) и *S. beanii* (сем. Серивомеридеи) – от 0,72 до 0,93. Исключения составили: мигрирующий *S. veranyi* (сем. Мустофидеи), коэффициент ФХ/ФЭА которого оставил 77,83 за счёт абсолютного доминирования ФХ (4,67% сухого вещества) и крайне низкого содержания ФЭА (0,06% сухого вещества) в мышцах; глубоководные *B. antarcticus* (сем. Стомиидеи), накапливающий ЭХС+воска, и *B. euryops* (сем. Батиллагидеи), запасующий ТАГ, коэффициент ХС/ФЛ у которых составил 1,16 и 1,04 соответственно.

С помощью методов канонического анализа соответствий и корреляционного анализа у вертикально-мигрирующих видов показаны разнонаправленные слабые изменения минорного ФС с глубиной в пределах семейства: сем. Мустофидеи – *L. macdonaldi* ($r = -0,2$) и *N. kroyeri* ($r = 0,2$); сем. Стомиидеи – *S. boa* ($r = -0,6$) и *C. sloani* ($r = 0,5$). У других мигрирующих рыб – *S. beanii* (сем. Серивомеридеи) и *B. euryops* (сем. Батиллагидеи) – установлено увеличение содержания ЛФХ (с 0,07 до 0,25 и с 0,01 до 0,23% сухого вещества соответственно) и вариации ФИ (0,01–0,02% сухого вещества). Для окунякловача (сем. Скорпаенидеи) установлена обратная корреляция классов ФЛ (ФХ, ФЭА, ФС, ФИ) с глубиной (r в диапазоне от -0,91 до -0,98).

Анализ ЖК состава фракции ФЛ представителей двух распространённых семейств мезопелагиали (Мустофидеи и Стомиидеи) моря Ирмингера установил различия в качественном составе ЖК радикалов у разных видов. Установлено, что у всех исследованных видов при увеличении глубины значительно изменяется количественное содержание *cis*18:1(n-9) (3,26–6,15 мкг/мл у *S. boa*; 1,30–1,64 мкг/мл у *N. kroyeri*; 4,49–0,29 мкг/мл у *M. niger*; 0,49–0,41 мкг/мл у *C. sloani*; 0,32–0,11 мкг/мл у *B. antarcticus*), *cis*22:6(n-3) (0,38–0,70; 1,14–1,46; 1,00–0,24; 0,26–0,22; 0,28–0,10 мкг/мл соответственно), *cis*20:3(n-

6) (0,53–0,81; 0,36–0,07; 0,69–0,04; 0,07–0,04; 0,09–0,00 мкг/мл соответственно), 16:0 (3,76–6,17; 2,93–2,98; 4,53–0,74; 1,26–1,35; 1,12–0,96 мкг/мл соответственно) и 18:0 ЖК (0,72–1,21; 0,79–0,74; 0,76–0,08; 0,04–0,14; 0,11–0,07 мкг/мл соответственно). Для представителя вертикально-немигрирующих рыб – *M. niger* – отмечены достоверные изменения количества возможных комбинаций молекулярных форм ФЛ (на основе статистического моделирования) в мышцах при увеличении глубины обитания – 16:0/cis18:1(n-9), 16:0/cis20:1(n-9), 18:0/cis18:1(n-9) и 18:0/cis20:1(n-9).

3. Жирные кислоты от общих липидов.

Установлены выраженные межвидовые различия ЖК профиля мышц мезопелагических рыб с характерными общими чертами: ADONIS – p -value = 0,001; ANOSIM – R = 0,8797, p -value = 0,001 (Рисунок 6). Выявлено доминирование МНЖК (41,28–59,46% от суммы ЖК) в мышцах 10 исследованных видов рыб, за исключением окуня-клювача, у которого отмечено высокое количество ПНЖК (45,43% от суммы ЖК). Олеиновая кислота (cis18:1(n-9)) определена в качестве основной МНЖК у большинства исследованных видов – содержание от 9,61 до 21,87% от суммы ЖК. Однако для *L. macdonaldi* (сем. Muctophidae) было отмечено доминирование cis20:1(n-9) ЖК (13,82% от суммы ЖК) при сравнительно низком индексе липидного обмена 16:0/cis18:1(n-9) – 0,30 vs 0,60–1,25 у других видов.

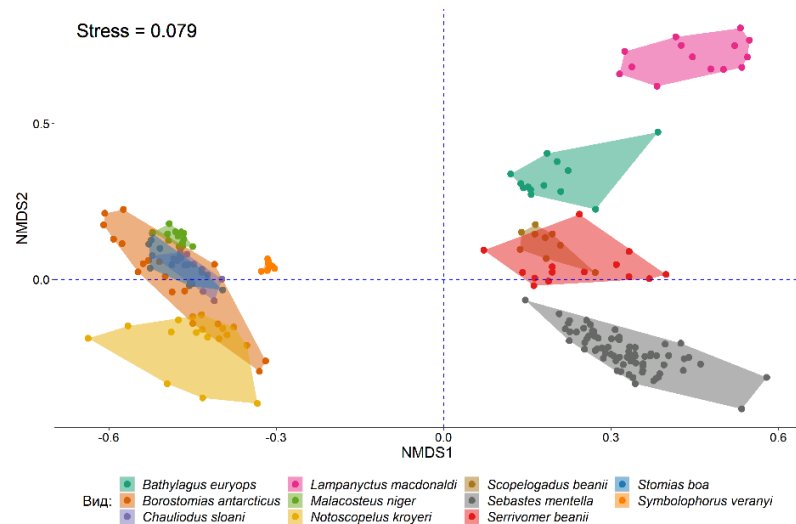


Рисунок 6. Ординация неметрического многомерного шкалирования (NMS) жирных кислот в мышечной ткани мезопелагических видов рыб, обитающих в градиенте глубин моря Ирмингера (Северная Атлантика)

Среди ПНЖК установлено доминирование n-3 и n-6 семейств (5,52–40,13 и 1,39–8,63% от суммы ЖК соответственно) с индивидуальными межвидовыми различиями в соотношении n-3/n-6 ЖК (от большего к меньшему): *S. mentella* – 13,72; *S. beanii* – 9,22; *S. boa* – 9,12; *M. niger* – 9,07; *B. euryops* – 6,71; *Sc. beanii* – 6,27; *L. macdonaldi* – 4,81; *S. veranyi* – 3,96; *N. kroyeri* – 3,66; *B. antarcticus* – 3,10; *C. sloani* – 2,31. В качестве основных ЖК данных семейств определены эйкозапентаеновая (cis20:5(n-3)), докозагексаеновая (cis22:6(n-3)) и арахидоновая (cis20:4(n-6)) кислоты, содержание которых составило 1,62–7,89, 1,88–29,11 и 0,19–5,25% от суммы ЖК соответственно. Отмечено, что у *S. mentella* и *S. beanii* при увеличении глубины обитания содержание арахидоновой кислоты в мышцах растёт от 1,50 и 1,00 до 2,09 и 1,23% от суммы ЖК соответственно. Установлены разнонаправленные корреляции cis20:5(n-3) и cis22:6(n-3) с увеличением глубины между вертикально-мигрирующими и немигрирующими видами. Для отдельных видов отмечено также накопление небольших количеств (менее 1%) ЖК следующих семейств: n-9, n-7 и n-

4 ПНЖК у *B. euryops*, *L. macdonaldi*, *Sc. beanii*, *S. beanii*, *S. mentella*, n-5 ПНЖК у *N. kroyeri*, а также n-1 ПНЖК у *B. euryops*, *L. macdonaldi*, *Sc. beanii* и *S. beanii*. Исключение составил *L. macdonaldi*, содержание n-9, n-4 и n-1 ПНЖК, у которого составило 1,44, 5,86 и 7,38% от суммы ЖК.

4. Жирные кислоты – трофические биомаркеры в составе общих липидов и запасных липидов – триацилглицеринов, эфиров холестерина и восков.

Анализ ЖК профиля ОЛ позволил определить «плотоядный» тип питания мезопелагических рыб согласно значениям индекса $cis18:1(n-9)/cis18:1(n-7)$, которые варьировали в пределах от 4,17 до 8,64. Среди идентифицированных биомаркерных ЖК основную долю составили $cis20:1(n-9)$ и $cis22:1(n-11)$, характерные для веслоногих ракообразных – 4,60–13,82 и 4,01–14,92% от суммы ЖК соответственно. Однако установлены различия между исследованными видами рыб по трофическому индексу $22:1/20:1$, указывающему на видовую принадлежность зоопланктона рода *Calanus* – $22:1/20:1 = 1$ у *B. antarcticus*; $22:1/20:1 < 1$ у *B. euryops*, *L. macdonaldi*, *S. mentella* и *S. beanii*; $22:1/20:1 > 1$ у *C. sloani*, *M. niger*, *Sc. beanii*, *S. boa* и *S. veranyi*. Для *B. antarcticus* (сем. Stomiidae) и *L. macdonaldi* (сем. Mucrophidae) дополнительно обнаружены длинноцепочечные спирты в мышцах – 10,27 и 12,12% от суммы ЖК соответственно. Отдельно для самцов и самок окуня-клювача отмечен различающийся вклад отдельных видов ракообразных в спектр питания на разных глубинах: > 1 – только у самцов на глубине 650 м; < 1 – у самок и самцов на глубине 250, 375 м, а также только у самок на глубинах 400, 650 и 700 м, а у самцов – 325 м; $= 1$ – у самок на глубине 325 м, у самцов – 700 м.

Кроме доминирующих трофических ЖК был идентифицирован широкий спектр следовых количеств (менее 1% от суммы ЖК) специфических биомаркеров растительного происхождения – $cis16:1(n-7)$, $cis18:1(n-7)$, $cis18:4(n-3)$, $cis18:5(n-3)$. У всех представителей семейства Stomiidae и у *N. kroyeri* (сем. Mucrophidae) выявлены также следовые количества 3,7,11,15-tetramethyl 16:0 (фитановая кислота). Для других видов – *S. mentella* (сем. Scorpaenidae), *S. beanii* (сем. Serrivomeridae), *Sc. beanii* (сем. Melamphidae), *L. macdonaldi* (сем. Mucrophidae), *S. veranyi* (сем. Mucrophidae), *B. euryops* (сем. Bathylagidae) – было отмечено содержание специфической для макроводорослей рода *Desmarestia* ЖК – $cis16:1(n-5)$, а у *B. euryops*, *L. macdonaldi*, *Sc. beanii*, *S. beanii* и *S. mentella* также идентифицированы $cis16:4(n-1)$ и $16:2(n-4)$, характерные для одноклеточных (диатомовые) и многоклеточных (*Melosira arctica*) микроводорослей.

Кластерный анализ мезопелагических рыб по ЖК профилю отдельных фракций запасных липидов (ТАГ, ЭХС+Воска) установил схожие черты между *C. sloani*, *S. boa*, *M. niger* (сем. Stomiidae), *N. kroyeri* (сем. Mucrophidae) и между *B. antarcticus* (сем. Stomiidae), *S. veranyi* (сем. Mucrophidae). Для каждой из групп установлены представители с накоплением $cis20:5(n-3)$, $cis22:6(n-3)$ и $cis20:4(n-6)$ ЖК в структуре ТАГ при увеличении глубины обитания: *N. kroyeri* – до 2,19, 1,81 и 0,48 мкг/мл соответственно; *B. antarcticus* – до 0,31 и 0,78 мкг/мл соответственно ($cis20:4(n-6)$ не обнаружена). В составе ЭХС и восков у вертикально-мигрирующих видов отмечено накопление $cis18:1(n-9)$, $cis20:1(n-9)$ и $cis22:1(n-11)$ ЖК (до 5,97, 2,95 и 5,06 мкг/мл соответственно). У вертикально-немигрирующего *M. niger* в данной фракции установлено исключительное накопление $cis18:1(n-9)$ от 0,19 до 4,82 мкг/мл на отдельных глубинах обитания.

II. Изменение спектра липидов и жирных кислот в зависимости от сроков хранения рыбного продукта (на примере окуня-клювача): сравнительный анализ пищевой и биотехнологической ценности мышц (филе) мезопелагических рыб

Проведена сравнительная оценка сохранения пищевого качества липидов и жирных кислот на примере окуня-клювача, собранного в рамках МТАС («дикие» образцы) и приобретённого в розничной торговле («коммерческие» образцы). Установлено, что филе «дикого» окуня достоверно различается по содержанию ОЛ от «коммерческого» продукта (7,71 vs 17,64% сухого вещества, соответственно). Выявлено повышенное содержание СЖК

(2,39% сухого вещества) в «коммерческом» филе, а также достоверно низкие значения ключевых метаболических индексов n-3/n-6, 16:0/cis18:1(n-9), cis18:3(n-3)/cis18:2(n-6), cis20:4(n-6)/cis18:2(n-6) и cis22:6(n-3)/cis20:5(n-3) по сравнению с «дикими» образцами (8,35 vs 13,72; 1,18 vs 1,79; 0,32 vs 0,56; 0,52 vs 1,14; 2,14 vs 3,85 соответственно). При этом отмечено высокое содержание ПНЖК в обоих типах продукта – 45,43 и 28,22% от суммы ЖК у «дикого» и «коммерческого» окуня. Основную долю составили физиологически значимые cis20:5(n-3) (7,89 и 7,13% от суммы ЖК соответственно) и cis22:6(n-3) (29,11 и 13,27% соответственно).

Отмечено, что филе «дикого» морского окуня превосходит образцы «коммерческого» филе по индексу качества липидов (FLQ) в 2 раза – 37,00 vs 20,41, а также указывает на лучшее качество пищи с позиции липидного обмена – снижения накопления ХС и формирования холестериновых бляшек, согласно значениям индекса гипо- и гиперхолестеринемии (НН) – 3,06 vs 2,71 соответственно. Наблюдалось, что в «коммерческих» образцах были высокими метаболические индексы атерогенности и тромбогенности (AI и TI) по сравнению с «дикими» образцами, однако отличия были недостоверны (0,37 и 0,35; 0,20 и 0,16 соответственно).

Сравнительный анализ потенциала мезопелагических рыб прилова установил, что общий индекс n-3/n-6 был достоверно ниже, чем у окуня-клевача – 9,22 у *S. beanii*, 9,12 у *S. boa*, 9,07 у *M. niger*, 6,71 у *B. euryops*, 6,27 у *Sc. beanii*, 4,81 у *L. macdonaldi*, 3,96 у *S. veranyi*, 3,66 у *N. kroyeri*, 3,10 у *B. antarcticus* и 2,31 у *C. sloani*. Однако частные показатели AI и TI варьировали в пределах 0,29–0,53 и 0,16–0,26 соответственно и достоверно не отличались от таковых в филе окуня-клевача. При этом показано, что для вертикально-немигрирующих *M. niger* (сем. Stomiidae) и *Sc. beanii* (сем. Melamphaidae) индекс AI (0,47 и 0,53 соответственно) выше, чем у вертикально-мигрирующих рыб – 0,09–0,42. Исключительное место в оценке исследованных видов рыб занимает *L. macdonaldi* (сем. Mucrophidae), у которого данные индексы AI и TI (0,09 и 0,08 соответственно), а также НН и НРІ (9,53 и 12,54 vs 1,81–3,29 и 1,94–3,31 соответственно) значительно выше, чем у других видов рыб при низком показателе FLQ – 6,58. Напротив, представители семейства Mucrophidae (*S. veranyi* и *N. kroyeri*) и *S. beanii* (сем. Serrivomeridae) имеют высокие и схожие значения FLQ (25,15, 20,44 и 25,15 соответственно) с коммерчески ценным морским омуем. Индекс FLQ у большинства других исследованных видов рыб варьировал в пределах от 11,94 до 15,40.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Содержание общих липидов в мышцах рыб как показатель поддержания постоянства внутренней среды организма на уровне липидного обмена в условиях обитания в мезопелагиали

Вертикальные миграции рыб – сложное экологическое явление, направленное на снижение прямого воздействия хищничества на гидробионтов, а также тесно связанное с функционированием трофических сетей. Такие миграции обеспечивают эффективное освоение пищевых ресурсов в глубоководных биотопах за счёт пространственного и временного расселения популяций рыб на различных нишах водной толщи. Данный процесс сопровождается выразительными воздействиями внешних факторов среды – перепады давления, температуры, солёности, ограниченность кормовой базы, специфическое освещение. Вариации липидов в составе тела рыб является одним из важнейших механизмов эколого-биохимических адаптаций к глубоководным условиям обитания. Установлено, что для обеспечения гомеостаза функций организма при воздействии комплекса факторов среды поддерживается постоянное количество ОЛ в мышцах. Наличие достоверных различий на уровне «вида», а не «семейства», указывает на видоспецифичное накопление ОЛ. Это связано, как с особенностями жизненного цикла, в части, прежде всего, репродуктивной функцией, выраженностью миграций и

особенностями двигательной активности, так и с экзогенными факторами: кормовая база, ее разнообразие, доступность и обилие, и др. (Hochachka, Somero, 2002; Tocher, 2003; Ozdemir et al., 2019).

Оценка количественного содержания ОЛ в мышцах исследованных рыб позволила ранжировать виды по этому показателю от большего к меньшему (в %) – *L. macdonaldi* (сем. Myctophidae), *S. veranyi* (сем. Myctophidae), *S. boa* (сем. Stomiidae), *M. niger* (сем. Stomiidae), *C. sloani* (сем. Stomiidae), *Sc. beanii* (сем. Melamphaidae), *N. kroyeri* (сем. Myctophidae), *B. euryops* (сем. Bathylagidae), *B. antarcticus* (сем. Stomiidae), *S. beanii* (сем. Serrivomeridae), *S. mentella* (сем. Scorpaenidae). Большинство миктофовых и стомиевых относятся к группе видов, накапливающих наибольшее количество липидов в мышцах. Полученные результаты, в совокупности с известными данными (Lea et al., 2002), позволяют обсуждать аккумуляцию ОЛ в качестве общей и отдельной характеристики рыб данных семейств. Накопление наименьшего количества ОЛ у окуня-клювача (*S. mentella*, сем. Scorpaenidae) рассматривается как один из характерных признаков морских окуней. По содержанию жира данный вид можно отнести к «жирным» (5–15% жира) (Никольский, 1974) или к «полужирным» (3–7% жира) (Karl et al., 2018) объектам с точки зрения промысловой оценки.

Определяющим фактором успешного приспособления рыб является обилие корма в биотопе (Сиделева, Козлова, 2010). Установленные отрицательные тренды ОЛ при увеличении глубины, вероятно, ассоциированы с сокращением кормовой базы на больших глубинах (Sargent, Falk-Petersen, 1988; Scott et al., 2002; Petursdottir et al., 2008b, Dolgov et al., 2011). Кроме того, данные тренды могут указывать на преобладание катаболических процессов над анаболическими на сравнительно небольших глубинах. В то же время, выявление положительных корреляций у *S. boa* и *C. sloani*, по всей видимости, связано с обитанием данных видов на больших глубинах и наличием у них онтогенетического миграционного поведения (Moteiki et al., 2009; Eduardo et al., 2020). Установлено, что принадлежность по половому признаку также оказывает влияние на направленность накопления (или снижения) количества ОЛ в мышцах. Так накопление ОЛ с глубиной у самок демонстрирует связь с репродуктивным периодом, так как сбор проб проходил в июне по окончании сезона вымета предличинок. Отсутствие статистически достоверных зависимостей от глубины в содержании ОЛ у обоих полов рыб демонстрирует участие липидов в обеспечении надлежащих метаболических функций для определённых размерно-весовых группировок, независимо от выбора ими глубины обитания.

Несмотря на гомогенность накопления ОЛ в мышцах, изменение индивидуальных классов липидов непосредственно связано с эколого-биохимическими адаптациями рыб к обитанию на глубине.

Роль запасных липидов в эколого-биохимических адаптациях мезопелагических рыб в условиях градиента глубин

Вертикальные перемещения гидробионтов в условиях градиента глубин – энергоёмкий и сложный процесс. В ходе эволюции глубоководные рыбы выработали ряд морфофизиологических адаптаций, таких как регуляция двигательной активности (Панов и др., 2021) и плавучести организма (Сиделева, Козлова, 2010). Такие адаптации позволили оптимизировать расход энергии в условиях разреженности и непостоянства состава кормовой базы, неравномерности распределения в мезопелагиали, о биохимических адаптациях известно значительно меньше.

В данном исследовании установлено накопление в мышцах запасных ЭХС и восков у вертикально-мигрирующих видов рыб, для которых характерна повышенная двигательная активность – *S. mentella*, *L. macdonaldi*, *N. kroyeri*, *S. veranyi*, *S. boa*, *C. sloani*, *B. antarcticus*, *B. euryops*, *S. beanii*. Свидетельства накопления большого количества запасных липидов в белых мышцах для поддержания оптимальной двигательной активности, а также их участия в регуляции плавучести тела, были представлены ранее в работах некоторых авторов (Lee

et al., 1971; Wang et al. 2019). Воска – это «медленнометаболизирующиеся» энергоемкие липиды, обладающие низкой плотностью (0,86 г/мл), за счет чего, чаще, аккумулируются во внеклеточном пространстве (Phleger, 1991) и, тем самым, остаются вне действия на них внутриклеточной гормончувствительной липазы. В связи с чем, не исключено, что накопление низкоплотных восков в мышцах у рыб может быть связано с их участием в регуляции плавучести тела – ее увеличении (плотность морской воды составляет 1,024–1,026 г/мл). Это может способствовать снижению энергетических затрат на двигательную активность, а у рыб с плавательным пузырем – на газорегуляцию у вертикально-мигрирующих рыб в период восходящих перемещений. Именно в настоящей работе впервые показана динамика восков и их роль как «депо» энергии, обеспечивающих двигательную активность мезопелагическим рыбам в градиенте глубин. Кроме того, у таких рыб доминирование восков связано с их еще одной функцией – возможностью быть преобразованными до других липидов, в зависимости от потребностей организма – до ТАГ, ФЛ, СЖК и др. (Sargent, 1978). Ранее (Phleger et al., 1999) накопление восков в мышцах было описано для представителей семейства Mucrophidae, обитающих в антарктических водах. По-видимому, общей характеристикой вертикально-мигрирующих глубоководных рыб, вне зависимости от географического региона обитания, является высокое содержание восков.

Совокупное с восками накопление другого липида – ЭХС – в мышцах вертикально-мигрирующих рыб также связано с депонированием энергии и интенсивностью обмена веществ в организме, при этом в отличие от восков именно эти липиды могут быть быстро использованы для синтеза других биохимических молекул и веществ. Молекулы ЭХС локализованы во внутриклеточной среде, что делает их более доступным субстратом для действия липазы, по сравнению с внеклеточными восками. При распаде ЭХС высвобождается молекула ЖК, которая может войти в состав других энергетических, структурных и сигнальных липидов, обеспечивая, тем самым, интенсивную двигательную работу мышц в изменяющихся условиях градиента глубин. Второй молекулой при распаде ЭХС является ХС, который участвует в механизмах реорганизации (уплотнения) структуры биомембран клеток (Neighbors, 1988; Phleger et al., 1999; Перевозчиков, 2008). Данный механизм изменения структуры обеспечивает активность мембраносвязанных ферментов и белков, в том числе тех, которые обеспечивают двигательную активность вертикально-мигрирующих рыб при изменении глубины. Другой, возможной и второстепенной, функцией ЭХС может являться участие в регуляции плавучести мезопелагических рыб. Процесс превращения свободного ХС в ЭХС связан с изменением плотности липидов с отрицательной к положительной (плотность ХС vs плотность ЭХС: 1,065 г/мл vs 0,95 г/мл), что, соответственно, может являться одним из дополнительных механизмов (в комплексе с основными физиолого-анатомическими и поведенческими механизмами) регуляции и достижения оптимальной плавучести в ходе вертикальных перемещений рыб.

У вертикально-мигрирующих и немигрирующих рыб обнаружены высокие количества «быстрометаболизирующихся» ТАГ, однако именно для немигрирующих по вертикали рыб этот класс липидов был доминирующим. Липиды данной структуры являются основной формой запасаения энергии в организме рыб, особенно для немигрирующих хищных видов – *M. niger* и *Sc. beanii*. Молекулы ТАГ быстро активизируются из адипоцитов, при их гидролизе в среднем выделяется 39 кДж энергии на 1 г липида (для сравнения 1 г глюкозы выделяет 16 кДж энергии) (Лапин, Шатуновский, 1981; Sweetman et al., 2014), при этом энергетическая емкость этих липидов зависит от их структуры (Мурзина, 2019). Данный тип запасных липидов является наиболее доступным субстратом для соответствующих липаз вне зависимости от молекулярной формы ТАГ (Eastman, 1988; Kostal, Simek, 1998; Haubert et al., 2011), что, в том числе, делает их «удобным» субстратом для получения энергии. Известно, что образ жизни, двигательная активность рыб, определяет скорость энергетического обмена, который у активных рыб значительно выше (Винберг, 1976; Карамушко, 1997). Кроме того, различия уровней локомоторной активности и уровня аэробного обмена также различается у рыб разных

экологических групп по местообитанию, у мезопелагических рыб при увеличении глубины в три раза, скорость потребления кислорода снижается в два раза (Карамушко, 2007).

Таким образом установлено, что общей характеристикой вертикально-мигрирующих видов рыб является депонирование значимого количества в мышцах мультифункциональных ЭХС и восков, которые способны обеспечивать необходимые энергетические потребности организма, а также участвовать в регуляции плавучести тела при вертикальных перемещениях. Для немигрирующих по вертикали рыб характерно исключительное депонирование ТАГ как ведущего источника энергии. При этом накопление и интенсивность липогенеза ТАГ у исследованных видов (мигрирующих и немигрирующих) зависит от глубины обитания и диапазона миграции вида рыбы.

Адаптации рыб к изменению давления с участием основных структурных липидов биомембран – фосфолипидов, а также холестерина

У глубоководных рыб в процессе эволюции сформировались физиологические и поведенческие механизмы адаптаций к постоянному изменению глубины и, соответственно, гидростатического давления (Захарченко, 2004). Реализация этих адаптаций, обеспечивающих слаженное функционирование всех систем организма и его жизнеспособность в изменяющихся условиях среды, в первую очередь формируется на клеточном и молекулярном уровнях. К числу ключевых механизмов поддержания целостности биомембран клетки относятся: 1) изменение количества доминирующих ФЛ – ФХ и ФЭА; 2) включение молекул ХС в структуру мембраны клетки; 3) изменение ненасыщенности ФЛ за счёт ЖК-компонентов (Hazel, Williams, 1990; Болдырев и др., 2006; Мурзина, 2019; Macdonald, 2021). Некоторые минорные ФЛ (ФИ, ФС и ЛФХ) также принимают участие в регуляции вязкости клеточной мембраны, изменяя ионную проницаемость, возбудимость мембраны и передавая внешние сигналы внутрь клетки (Макарова и др., 2001). Установленные в исследовании достоверные различия между видами демонстрирует работу комплекса механизмов адаптации к давлению у мезопелагических рыб.

Установлено, что для вертикально-мигрирующих видов рыб характерно включение ХС в мембрану клетки, что позволяет организму быстрее реагировать на упорядочивание биомембраны мышц при изменении гидростатического давления. При этом отмечено, что активность механизма по включению ХС в структуру клетки связана и зависит от класса липида, участвующего в обеспечении положительной плавучести рыбы. Установлено, что данный механизм более характерен для представителей семейств Mucrophidae (*S. veranyi* и *N. kroyeri*) и Stomiidae (*S. boa* и *C. sloani*), которые накапливают запасные ТАГ. Этерификация ХС в ЭХС (присоединение ЖК к ХС), вероятно, у данных рыб происходит слабее, что позволяет более «тяжёлому» по плотности ХС активнее встраиваться в структуру мембраны. В то же время *S. mentella* (сем. Scorpaenidae), *L. macdonaldi* (сем. Mucrophidae) и *S. beanii* (сем. Serrivomeridae), накапливающие ЭХС и воска в мышцах, вероятно, встраивают более «лёгкую» форму ХС – ЭХС – в мембрану. Стоит отметить, что такая форма менее способна к упорядочиванию биомембраны, чем свободный ХС (Dufourc, 2008). Однако мультифункциональность ЭХС позволяет поддерживать несколько механизмов адаптации к осуществлению вертикальных миграций – участие в регуляции плавучести рыбы при вертикальных перемещениях и обеспечение оптимальной жидкостности мембраны мышц.

Для полноценного осуществления поведенческих гидростатических реакций, мышечной ткани рыб необходима нормальная активность мембраносвязанных ферментных систем, ответственных за трансмембранный перенос ионов. Такие процессы поддерживаются необходимой степенью жидкостности биомембраны, а также включением в её структуру ФС, ФИ или ЛФХ (Макарова и др., 2001). В ходе исследования установлено, что мезопелагические рыбы используют все три ФЛ, а также их комбинации, в регуляции активности ферментных систем, ответственных за транспорт ионов Ca^{2+} через мембрану

клетки (Sandel et al., 2010). При этом отмечено, что механизмы регуляции различаются на уровне вида.

Другим механизмом адаптации мышц к изменению гидростатического давления при вертикальных миграциях является изменение ненасыщенности ФЛ мембраны клеток. Установлено, что при всплытии рыбы в верхние слои мезопелагиали в структуре ФЛ увеличивается количество НЖК, тогда как при погружении, наоборот, ПНЖК. Механизм включения ненасыщенных ЖК в структуру ФЛ позволяет увеличивать жидкость мембраны при действии высокого давления и относительно низких температур для поддержания целостности клетки (Buda et al., 1994; Macdonald, 2021). Некоторые обнаруженные ЖК являются характерными для структуры ФС – 18:0 и С22 ПНЖК (Tocher, 1995), что указывает также на косвенное участие ЖК в двигательной активности организма во время миграции. Полиненасыщенные ЖК, особенно n-3 и n-6 ПНЖК, являются незаменимыми компонентами для поддержания толщины и жидкости липидного бислоя мембраны во время колебаний гидростатического давления (Рабинович, Рипатти, 1994; Мурзина, 2019). Для исследованных рыб установлено накопление разных видов ненасыщенных кислот в мышцах – преимущественно n-3 ПНЖК у *S. mentella* (сем. Scorpaenidae), *L. macdonaldi* (сем. Mucrophidae), *S. veranyi* (сем. Mucrophidae), *S. boa* (сем. Stomiidae), *B. euryops* (сем. Bathylagidae), *S. beanii* (сем. Serrivomeridae), и депонирование сравнительно высокого содержания n-6 ПНЖК у *C. sloani* (сем. Stomiidae), *B. antarcticus* (сем. Stomiidae), *N. kroyeri* (сем. Mucrophidae). Соотношение данных семейств ЖК позволяет регулировать степень вязкости биомембраны мышечной ткани и определяет стратегию адаптации вида рыбы к давлению. Так вертикально-мигрирующие рыбы накапливают cis20:5(n-3) и cis22:6(n-3) ПНЖК в мышцах при увеличении глубины, что позволяет им поддерживать оптимальный уровень жидкости мембраны при увеличении давления. Повышение уровня cis22:6(n-3) в мышцах у придонных рыб ранее регистрировалось у аркто-бореального представителя ихтиофауны – пятнистого лептоклинуса *Leptoclinus maculatus*, который в ходе метаморфоза от пелагической личинки переходит к бентосной половозрелой особи и населяет глубины в 250–300 метров. Недавнее исследование (Murzina et al., 2020) на этом же виде рыбы выявило поддержание ненасыщенности липидов за счёт cis22:6(n-3) и cis20:5(n-3), что напрямую связано с двигательной активностью организма в определённых условиях среды.

Для вертикально-немигрирующих видов рыб в качестве основных адаптаций к обитанию на глубине установлена регуляция соотношения основных ФЛ (ФХ и ФЭА) в структуре мембраны мышц. Данная адаптация позволяет поддерживать оптимальные условия функционирования внутриклеточной среды организма при стабильном воздействии гидростатического давления. При этом механизм включения минорных ФИ, ФС и ЛФХ в мембрану аналогичен вертикально-мигрирующим видам. Вероятно, данный механизм у немигрирующих видов участвует в локальной компенсации при небольшом увеличении давления. На уровне ЖК метаболизма также отмечено увеличение НЖК в верхних слоях мезопелагиали и рост n-3 ПНЖК в мышцах на больших глубинах.

Таким образом установлено, что механизмы адаптации, направленные на поддержание гомеостаза внутриклеточной среды путём реорганизации структуры мембраны мышц, носят скорее видоспецифичный характер с некоторыми общими чертами в зависимости от глубины обитания. Общим для всех исследованных видов является увеличение ненасыщенности ФЛ мембраны у рыб на больших глубинах и снижение ненасыщенности при уменьшении глубины обитания. При этом для рыб, не осуществляющих вертикальные миграции, более характерна регуляция жидкости биомембраны за счёт изменения соотношения молекулярных форм ФЛ в липидном бислое, тогда как для вертикально-мигрирующих видов, также задействован механизм включения ХС в структуру мембраны мышечной ткани.

Трофические отношения мезопелагических рыб в условиях неоднородности среды глубоководных экосистем

Описанные выше эколого-биохимические адаптации направлены на обеспечение выживаемости организма в условиях действия факторов среды. Однако одним из главных условий длительного существования вида является пространственная трофическая дифференциация. Согласно Мантейфель Б.П. (Мантейфель, 1980) пищевые взаимоотношения формируют особый оборонительно-пищевой комплекс поведенческих реакций, что может быть справедливым и для глубоководных рыб, у которых поиск и добыча кормовых объектов происходит в широком диапазоне глубин. Трофические взаимоотношения складываются в сложные связи, в основе которых лежит схема «кормовые беспозвоночные – «мирные» рыбы – хищные рыбы» (Мантейфель, 1961). Отслеживание таких взаимоотношений у мезопелагических рыб позволяет лучше понять механизмы разделения кормового ресурса глубоководных биотопов. Для глубоководных рыб данные механизмы имеют особое значение при формировании наследуемых признаков, обуславливающих трофическую дифференциацию. Поступление незаменимых липидных компонентов, необходимых для нормального функционирования организма, возможно только с пищей, ввиду ограниченности синтеза данных веществ внутри организма. Известно, что «концепция трофических биомаркеров» (Lee et al., 1971) основана на анализе общих и специфических ЖК компонентов, а также их соотношениях, встречаемых только в определённых таксономических группах организмов.

Установлено, что все исследованные виды мезопелагических рыб имеют «плотоядный» тип питания. Обнаружение в мышцах специфических ЖК для арктических веслоногих ракообразных позволяет предположить, что род *Calanus* является одним из основных источников питания данных рыб. Однако видовой состав зоопланктона различается между видами (Sargent, Falk-Petersen, 1988; Scott et al., 2002) – для *B. antarcticus* – преобладание *Calanus finmarchicus*; у *B. euryops*, *L. macdonaldi*, *S. mentella* и *S. beanii* – *C. glacialis*; у *C. sloani*, *M. niger*, *Sc. beanii*, *S. boa* и *S. veranyi* – *C. hyperboreus*. Для *B. antarcticus* (сем. Stomiidae) и *L. macdonaldi* (сем. Myctophidae) идентификация длинноцепочечных спиртов только подтверждает передачу вещества и энергии по трофической сети от богатых восками и жирными спиртами веслоногих ракообразных (Sargent, Falk-Petersen, 1988; Lee, 1974; Falk-Petersen et al., 2009).

Для самцов и самок окуня-клювача установлен различающийся вклад отдельных видов калянусов в спектр питания на разных глубинах: *C. hyperboreus* – только у самцов на глубине 650 м; *C. glacialis* – у самок и самцов на глубине 250, 375 м, а также только у самок на глубинах 400, 650 и 700 м, а у самцов – 325 м; *C. finmarchicus* – у самок на глубине 325 м, у самцов – 700 м. Полученный результат позволяет обсуждать доминирование *C. glacialis* в питании самцов и особенно у самок на большинстве исследованных глубин, тогда как обнаруженные биомаркерные ЖК *C. finmarchicus* у самцов могут отражать их способность к «сохранению» данных кислот в структуре отдельных липидов и демонстрировать «трофическую» связь пелагиали и глубоководья.

Кроме доминирующих трофических ЖК общих липидов был идентифицирован широкий спектр следовых количеств специфических биомаркеров растительного происхождения – cis16:1(n-7), cis18:1(n-7), cis18:4(n-3), cis18:5(n-3) – входящих в состав большинства фотосинтетических мембран (Leblond et al., 2015). У всех представителей семейства Stomiidae и у *N. kroyeri* (сем. Myctophidae) выявлены следовые количества 3,7,11,15-tetramethyl 16:0 (фитановая кислота), предшественника фитола – компонента хлорофилла (Verhoeven et al., 1998). Для других видов – *S. mentella* (сем. Scorpaenidae), *S. beanii* (сем. Serrivomeridae), *Sc. beanii* (сем. Melamphidae), *L. macdonaldi* (сем. Myctophidae), *S. veranyi* (сем. Myctophidae), *B. euryops* (сем. Bathylagidae) – было отмечено содержание специфической для макроводорослей рода *Desmarestia* ЖК – cis16:1(n-5), а у *B. euryops*, *L. macdonaldi*, *Sc. beanii*, *S. beanii* и *S. mentella* также идентифицированы cis16:4(n-1) и 16:2(n-4), характерные для одноклеточных (диатомовые) и многоклеточных (*Melosira*

arctica) микроводорослей (Falk-Petersen et al., 1998; Dalsgaard et al., 2003; Boissonnot et al., 2016). Минорное содержание ЖК «растительного» (фитопланктонного) происхождения в мышцах хищных видов рыб, вероятно, указывает на поступление этих ЖК в организм по трофической сети или сопутствующее потребление поступающих из фотической зоны агрегаций микроводорослей (т.н. «морской снег»), что подтверждает экосистемную значимость мезопелагиали и водных организмов этой зоны в перераспределении органического вещества в продукционных зонах океана.

Анализ ЖК профиля запасных ТАГ, ЭХС и восков, которые как правило депонируют ЖК пищевых объектов, позволил установить схожие черты в питании между *C. sloani*, *S. boa*, *M. niger* (сем. Stomiidae) и *N. kroyeri* (сем. Mucrophidae) и *B. antarcticus* (сем. Stomiidae), *S. veranyi* (сем. Mucrophidae). Вероятнее всего, данные различия связаны с активностью питания и обилием кормовой базы в районах обитания данных видов (Scott et al., 2002). При этом в каждой группе определены виды с более высоким трофическим положением – *N. kroyeri* и *B. antarcticus*. Для данных видов продемонстрировано установлено накопление *cis20:5(n-3)*, *cis22:6(n-3)* и *cis20:4(n-6)* в ТАГ, что является довольно специфичным. Гидролиз таких полиненасыщенных молекулярных форм ТАГ до ДАГ может сопровождаться одновременным синтезом высоконенасыщенных ФЛ, встраиваемых в биомембрану. Данная метаболическая реакция демонстрирует прямую связь между питанием и адаптациями к изменению давления.

У вертикально-мигрирующих видов было отмечено накопление *cis18:1(n-9)*, *cis20:1(n-9)* и *cis22:1(n-11)* ЖК в составе ЭХС и восков. Это подтверждает вертикальную миграцию рыб за счет возможности питания зоопланктоном на меньших глубинах. В то же время, для *M. niger*, который не осуществляет вертикальные миграции, установлено исключительное накопление *cis18:1(n-9)* в ЭХС и восках. Такая слабая вариативность, вероятнее всего, связана с эволюционно сложившейся спецификой энергетического обмена. В этом случае основными участниками процесса выступают липиды с данной, немногочисленной структурой, что можно рассматривать как механизм адаптации к глубоководным условиям среды в условиях скудной и ограниченной трофической базы. На отсутствие вертикальных миграций у данного вида указывает также доминирование С18 ЖК, которые характерны больше для бентосных, а не планктонных форм жизни.

Таким образом установлено, что исследуемые виды мезопелагических рыб, согласно результатам полного ЖК профилирования, имеют «плотоядный» тип питания с прямым или опосредованным поступлением биомаркерных ЖК зоопланктона. При этом пищевые предпочтения к видам зоопланктона у исследованных видов рыб видоспецифичны, а доступность таковых определяет пространственно-онтогенетические различия. Кроме того, опираясь на качественную и количественную идентификацию минорных ЖК растительного происхождения было определено положение исследуемых видов рыб в трофической сети не ниже консументов 2-го порядка. Выявлено, что ЖК состав энергетических классов липидов различается между вертикально мигрирующими и немигрирующими видами, что также связано с трофикой.

Изменение спектра липидов и жирных кислот в зависимости от сроков хранения рыбного продукта (на примере окуня-клювача): сравнительный анализ пищевой и биотехнологической ценности мышц (филе) мезопелагических рыб

В данном разделе представлена сравнительная оценка сохранения пищевого качества липидов и жирных кислот на примере окуня-клювача, собранного в рамках МТАС («дикие» образцы) и приобретённого в розничной торговле («коммерческие» образцы). Установлено, что при хранении филе морского окуня сроком от 2 до 6 месяцев липиды претерпевают окислительные и гидролитические изменения. Данные процессы оказывают непосредственное влияние на органолептические свойства продукта, его питательную ценность, выход продукта после размораживания, а также влияет на способность мышечной ткани удерживать воду (Erickson, 1997; Dang et al., 2018). Повышенное содержание СЖК

позволяет предположить, что липидные компоненты в филе «коммерческих» образцов подвергались медленной окислительной деградации при длительной транспортировке и хранении в ненадлежащих (или с перепадами) температурных условиях (Pacheco-Aguilar et al., 2000). Наличие деструктивных окислительных процессов при ненадлежащем хранении подтверждается также достоверными различиями в индексах соотношения физиологически значимых ЖК – n-3/n-6, 16:0/cis18:1(n-9); cis18:3(n-3)/cis18:2(n-6); cis20:4(n-6)/cis18:2(n-6); cis22:6(n-3)/cis20:5(n-3). Однако стоит отметить, что как для «диких», так и для «коммерческих» образцов филе морского окуня было установлено высокое содержание ПНЖК, где основную долю составили эйкозапентаеновая (cis20:5(n-3)) и докозагексаеновая (cis22:6(n-3)) кислоты. Это особо важные для здоровья человека ЖК, которые обладают иммуномодулирующими, общеукрепляющими и лечебно-профилактическими свойствами, а также применяются в терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

Анализ пищевой ценности показал снижение качества липидов (FLQ) при хранении продукта в ненадлежащих условиях в 2 раза. «Дикий» окунь также превосходит «коммерческие» образцы по качеству пищи с позиции липидного обмена – снижения накопления ХС и формирования холестериновых бляшек, согласно значениям индекса гипогиперхолестеринемии (НН). Однако следует отметить, что обоим групп морского окуня индекс НН достаточно высок, по сравнению, например, с молочными продуктами животного происхождения (Abel, et al., 2019). Установленные низкие значения индексов атерогенности и тромбогенности (AI и TI) у двух групп образцов определяют продукт как положительно влияющий на сердечно-сосудистую систему (Turan et al., 2007), а также обладающие химиофилактическими, химиосупрессивными и вспомогательными свойствами при терапии онкологических заболеваний (Corsetto et al., 2011) вне зависимости от сроков хранения.

Несмотря на достоверно низкие показатели соотношения n-3/n-6 у рыб прилова, мезопелагические рыбы могут обладать положительным эффектом на организм с позиции оценки AI и TI наряду с морским окунем. При этом показано, что вертикально-немигрирующие виды обладают более высоким индексом AI, чем мигрирующие. Установлено, что среди вертикальных мигрантов *L. macdonaldi* (сем. Mucrophidae) является перспективным объектом биотехнологической промышленности с позиции оценки AI, TI, НН и НРІ. Напротив, представители семейства Mucrophidae (*S. veranyi* и *N. kroyeri*) и *S. beanii* (сем. Serrivomeridae) оценены как потенциальные пищевые объекты с позиции сходства индекса качества липидов с коммерчески ценным морским окунем.

Таким образом установлено, что длительность хранения замороженной продукции, температурные условия (и особенно флуктуации), а также условия транспортировки оказывают существенное влияние на питательную и биотехнологическую ценность филе окуня-клювача. Установлено, что мезопелагические рыбы являются уникальными пищевыми и биотехнологическими объектами. На основе полного анализа липидов и их жирнокислотных компонентов, а также их соотношений показана возможность использования исследованных видов рыб при решении различных прикладных задач. Среди исследованных видов рыб *L. macdonaldi* является источником антиатерогенных, антитромбогенных и противохолестериновых веществ липидной природы, тем самым потенциально имеет значение как сырье для биотехнологической промышленности. Такие виды как *S. veranyi*, *N. kroyeri* и *S. beanii* отличаются качеством липидов рыбы/мяса (индекс FLQ) как и промысловый, значимый пищевой объект окунь-клювач. Остальные исследованные виды могут быть использованы для переработки кормов в целях аквакультуры.

ВЫВОДЫ

1. Количество общих липидов в мышцах исследованных рыб является устойчивым показателем, обеспечивающим гомеостаз функций организма к воздействию факторов среды, при этом показана специфичность содержания общих липидов на уровне вида, а не семейства;
2. У вертикально-мигрирующих рыб поддержание энергоёмких метаболических процессов, в том числе связанных с поддержанием активных перемещений в градиенте глубин, осуществляется за счёт многофункциональных восков и эфиров холестерина. В виду различий плотностных свойств этих липидов предполагается их участие в регуляции плавучести тела рыб для обеспечения нисходящих и восходящих миграций. Для немигрирующих по вертикали рыб свойственно накопление только триацилглицеринов в качестве основного энергетического субстрата;
3. Адаптации к изменению глубины (фактор давления и его перепады) у вертикально-мигрирующих видов происходят путем увеличения количества холестерина в биомембраны мышечной ткани в свободной или связанной форме (в виде ЭХС), а также за счет изменения соотношения молекулярных форм фосфолипидов и степени их ненасыщенности. У вертикально-немигрирующих рыб коррекция жидкостности мембраны производится исключительно за счёт молекулярных форм фосфолипидов и изменения степени их ненасыщенности;
4. У *N. kroyeri* и *B. antarcticus* установлена уникальная редкая структура ТАГ характеризующаяся доминированием *cis*20:5(n-3), *cis*22:6(n-3) и *cis*20:4(n-6), что указывает на реализацию специфического механизма адаптации к глубине, связанного с депонированием длинноцепочечных жирных кислот используемых для синтеза высоконенасыщенных ФЛ при реорганизации биомембран для адекватной работы мышц при вертикальных миграциях;
5. Адаптация к изменению глубины с участием жирных кислот осуществляется путём регуляции пространственной структуры биомембран за счёт преимущественно n-3 полиненасыщенных жирных кислот у группы видов – *S. mentella*, *L. macdonaldi*, *S. veranyi*, *S. boa*, *M. niger*, *B. euryops*, *S. beanii*, *Sc. beanii* и за счет n-6 полиненасыщенных жирных кислот у *C. sloani*, *B. antarcticus*, *N. kroyeri*. При этом содержание физиологически ценных *cis*20:5(n-3) и *cis*22:6(n-3) коррелирует с глубиной и указывает на различия в «реактивности» компенсаторного ответа при изменении гидростатического давления между вертикально-мигрирующими и не мигрирующими видами рыб;
6. Количественное содержание и динамика биомаркерных жирных кислот зоопланктона, а также соотношения этих жирных кислот указывают на питание рыб видами пелагической зоны, что свидетельствует в пользу миграций рыб на меньшие глубины и экосистемную значимость таковых для взаимосвязи пелагиали и глубоководных участков океана. У немигрирующих рыб не установлено накопления этих жирных кислот, но выражено накопление кислот структуры C18;
7. Исследованные виды мезопелагических рыб занимают положение в трофической сети не ниже консументов 2-го порядка, на что указывает минорное содержания биомаркерных жирных кислот фитопланктона – *cis*16:1(n-7), *cis*18:1(n-7), *cis*18:4(n-3) и *cis*18:5(n-3). При этом *N. kroyeri* и *B. antarcticus* занимают более высокое трофическое положение за счёт активного накопления *cis*20:5(n-3), *cis*22:6(n-3) и *cis*20:4(n-6) в запасных триацилглицеринах, что свидетельствует о хищничестве.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Статьи:

1. **Voronin V.P.**, Nemova N.N., Ruokolainen T.R., Artemenkov D.V., Rolskii A.Y., Orlov A.M., Murzina S.A. Into the deep: New data on the lipid and fatty acid profile of redfish *Sebastes mentella* inhabiting different depths in the Irminger Sea // *Biomolecules*. – 2021. – Vol. 11, N. 5. – Article ID. 704. <https://doi.org/10.3390/biom11050704> (WoS, Scopus, ядро РИНЦ)
2. Murzina S.A., **Voronin V.P.**, Ruokolainen T.R., Artemenkov D.V., Orlov A.M. Comparative analysis of lipids and fatty acids in beaked redfish *Sebastes mentella* Travin, 1951 collected in wild and in commercial products // *Journal of Marine Science and Engineering*. – 2022. – Vol. 10, N. 1. – Article ID. 59. <https://doi.org/10.3390/jmse10010059> (WoS, Scopus, ядро РИНЦ)
3. **Voronin V.P.**, Artemenkov D.V., Orlov A.M., Murzina S.A. Lipids and fatty acids in some mesopelagic fish species: General characteristics and particularities of adaptive response to deep-water habitat // *Journal of Marine Science and Engineering*. – 2022. – Vol. 10, N. 7. – Article ID. 949. <https://doi.org/10.3390/jmse10070949> (WoS, Scopus, ядро РИНЦ)
4. **Voronin V.P.**, Artemenkov D.V., Orlov A.M., Murzina S.A. Fatty acid spectra in mesopelagic fishes of the Myctophidae and Stomiidae families collected in the North East Atlantic // *Diversity*. – 2023. – Vol. 15, N. 2. – Article ID. 166. <https://doi.org/10.3390/d15020166> (WoS, Scopus, ядро РИНЦ)
5. **Воронин В.П.**, Артеменков Д.В., Орлов А.М., Мурзина С.А. Липидный профиль мышечной ткани некоторых мезопелагических видов рыб семейств Stomiidae и Myctophidae с разных глубин моря Ирмингера, Северная Атлантика // *Вопросы ихтиологии*. – 2023. – Т. 63, № 5. – С. 608–620. <https://doi.org/10.31857/S004287522305017X> (WoS, Scopus, ядро РИНЦ)

Материалы и тезисы конференций:

1. **Воронин В.П.**, Рольский А.Ю., Артеменков Д.В., Орлов А.М., Мурзина С.А. Сравнительная характеристика липидного профиля самцов и самок окуня-клювача (*Sebastes mentella*), отловленных в градиенте глубин моря Ирмингера (Северная Атлантика) в 2019 и 2021 гг. // *Материалы VII научно-практической международной конференции «Современное состояние водных биоресурсов и аквакультуры»*. – 2023. – С. 26–35.
2. **Воронин В.П.**, Артеменков Д.В., Орлов А.М., Мурзина С.А. Сравнительно-видовое исследование жирнокислотного состава некоторых видов мезопелагических рыб моря Ирмингера // *Материалы Всероссийской конференции учёных и специалистов, посвящённой 160-летию Н.М. Книповича «Актуальные проблемы освоения водных биологических ресурсов Российской Федерации»*. – 2023. – С. 125–131.
3. **Воронин В.П.**, Артеменков Д.В., Орлов А.М., Мурзина С.А. Глубоководные рыбы семейства стомиевые (Stomiidae) моря Ирмингера: эколого-биохимические адаптации с участием липидов к обитанию в градиенте глубин // *Материалы Международной конференции «Новые технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии (NT+ME`23)»*. – 2023. – С. 142–147. <https://doi.org/10.47501/978-5-6044060-3-8.142-147> (РИНЦ)
4. Мурзина С.А., **Воронин В.П.**, Артеменков Д.В., Орлов А.М. Эколого-биохимические адаптации липидов и жирных кислот у некоторых видов рыб моря Ирмингера (Северная Атлантика) к глубоководному образу жизни // *Материалы Международной конференции «Новые технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии (NT+ME`22). Весенняя сессия»*. – 2022. – С. 196–203. <https://www.doi.org/10.47501/978-5-6044060-2-1.196-203> (РИНЦ)

5. Murzina S.A., Pekkoeva S.N., Nefedova Z.A., **Voronin V.P.**, Orlov A.M., Artemenkov D.V., Berge J., Falk-Petersen S., Nemova N.N. Lipid profiling of certain fish species of the northern seas: status, biochemical adaptations and bioprospecting perspectives // 14 International congress ISSFAL Virtual 2021, 10-14 May. – 2021. – ID 173.
6. Murzina S.A., **Voronin V.P.**, Orlov A.M., Artemenkov D.V., Ruokolainen T.R., Nemova N.N. Lipids and fatty acids of beaked redfish *Sebastes mentella* in the Irminger Sea: ecological importance of lipids in mesopelagic ecosystems // Book of abstracts of the International Conference Lipids in the Ocean. (5-7 July 2021). – 2021.
7. **Воронин В.П.**, Мурзина С.А., Руоколайнен Т.Р., Немова Н.Н., Артеменков Д.В., Рольский А.Ю., Орлов А.М. Липидный профиль окуня - клювача *Sebastes mentella* моря Ирмингера в градиенте глубин // Материалы VI Всероссийской научной конференции молодых учёных «Комплексные исследования Мирового океана (КИМО-2021)». – 2021. – С. 240. (РИНЦ)
8. Мурзина С.А., **Воронин В.П.**, Артеменков Д.В., Орлов А.М., Немова Н.Н. Сравнительная характеристика липидного и жирнокислотного профиля некоторых видов мезопелагических рыб моря Ирмингера // Тезисы докладов Международной научной конференции, посвящённой 150-летию Севастопольской биологической станции – Института биологии южных морей имени А.О. Ковалевского и 45-летию НИС «Профессор Водяницкий» «Изучение водных и наземных экосистем: история и современность». – 2021. – С. 395–397. (РИНЦ).
9. Murzina S.A., Pekkoeva S.N., **Voronin V.P.**, Nefedova Z.A., Filippova K.A., Orlov A.M., Orlova S.Yu., Artemenkov D.V., Nemova N.N. Mesopelagic fishes of the Irminger Sea: lipid status, adaptations, potential and perspectives of current challenging bioactive and functional food compounds // International conference «Arctic Frontiers 2020 – The power of knowledge». – 2020. – On-line.
10. **Воронин В.П.** Липидное профилирование, адаптации, пищевая и биологическая ценность окуня-клювача (*Sebastes mentella* Travin, 1951) и некоторых мезопелагических рыб моря Ирмингера // Сборник тезисов докладов участников пятого Всероссийского молодёжного научного форума «Наука будущего - наука молодых». – 2020. – С. 78.

Результаты интеллектуальной деятельности (базы данных):

1. База данных № RU 2023620864 «Фосфолипидный спектр скелетных мышц десяти видов пяти семейств мезопелагических рыб, отловленных на разных глубинах моря Ирмингера» / **Воронин В.П.**, Руоколайнен Т.Р., Мурзина С.А. // Зарегистрирована в Федеральной службе по интеллектуальной собственности 13.03.2023 г.
2. База данных № RU 2023622266 «Жирнокислотный профиль общих липидов и основных классов липидов скелетных мышц десяти видов мезопелагических рыб в интервале глубин 250–700 м моря Ирмингера» / **Воронин В.П.**, Манойлова Д.И., Мурзина С.А. // Зарегистрирована в Федеральной службе по интеллектуальной собственности 06.07.2023 г.
3. База данных № RU 2022620751 «Фосфолипидный состав скелетных мышц окуня-клювача (*Sebastes mentella*) в градиенте глубин районов Северо-Восточной Атлантики» / Мурзина С.А., **Воронин В.П.**, Пеккоева С.Н., Руоколайнен Т.Р. // Зарегистрирована в Федеральной службе по интеллектуальной собственности 29.03.2022 г.
4. База данных № RU 2022622352 «Липидные спектры скелетных мышц некоторых видов мезопелагических рыб в градиенте глубин моря Ирмингера» / **Воронин В.П.**, Мурзина С.А., Пеккоева С.Н. // Зарегистрирована в Федеральной службе по интеллектуальной собственности 08.09.2022 г.
5. База данных № RU 2021622693 «Липидный и жирнокислотный состав скелетных мышц окуня-клювача (*Sebastes mentella*) в градиенте глубин районов Северо-Восточной Атлантики» / Мурзина С.А., **Воронин В.П.** // Зарегистрирована в Федеральной службе по интеллектуальной собственности 29.11.2021 г.