

Министерство науки и высшего образования РФ

Федеральное государственное автономное

образовательное учреждение высшего образования

«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологий

институт

Кафедра водных и наземных экосистем

кафедра

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

_____ М.И. Гладышев

подпись инициалы, фамилия

« _____ » _____ 20 ____ г

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Состав и содержание жирных кислот гольцов р. *Salvelinus* из озера Собачье

06.04.01 «Биология»

код и наименование направления

06.04.01.04 «Гидробиология и ихтиология»

код и наименование магистерской программы

Руководитель	_____	<u>доцент, к.б.н</u>	<u>И. В. Зуев</u>
	подпись, дата	должность, учёная степень	инициалы, фамилия
Руководитель	_____	<u>доцент, к.б.н</u>	<u>А. Е. Рудченко</u>
	подпись, дата	должность, учёная степень	инициалы, фамилия
Выпускник	_____		<u>В. А. Карпов</u>
	подпись, дата		инициалы, фамилия
Рецензент	_____	<u>зав.лаб., к.б.н</u>	<u>О. В. Барсукова</u>
	подпись, дата	должность, учёная степень	инициалы, фамилия

Красноярск, 2023

Реферат

Магистерская диссертация по теме «Состав и содержание жирных кислот гольцов р. *Salvelinus* из озера Собачье», содержит 41 страниц текстового документа, 7 таблиц, 1 рисунок, 47 использованных источников.

ПНЖК, ЭПК, ДГК, ГОЛЬЦЫ.

Объект исследования – гольцы р. *Salvelinus*.

Цель работы: выявить факторы оказывающие влияние на содержание ЭПК и ДГК в мышечной ткани гольцов р. *Salvelinus* из озера Собачье.

В результате проведенных исследований были определены состав и содержание жирных кислот 42 особей гольца р. *Salvelinus* из 2-х озер- оз. Собачье и оз. Кета. Анализ маркерных жирных кислот не выявил отличий в кормовой базе исследуемых особей, кроме более высокой общей жирности гольцов из озера Собачье.

Анализ абсолютного содержания жирных кислот позволил выявить достоверные отличия в содержании физиологически важных жирных кислот внутри одного вида/формы из озера Собачье. Помимо этого, были проанализированы факторы, оказывающие влияние на содержание ЭПК и ДГК. Было выяснено, что пол не оказывает достоверного влияния на содержание ЭПК и ДГК, а стадия зрелости и возраст оказывают достоверное влияние на содержание ЭПК и ДГК.

Оглавление

Введение.....	4
1. Обзор литературы	6
1.1 ПНЖК для человека	6
1.2 Источники омега-3 ПНЖК.....	7
1.3 ПНЖК в рыбах	9
1.4 Разнообразие гольцов рода <i>Salvelinus</i>	13
2. Материалы и методы	15
2. 1. Характеристика района работ.....	15
2.2 Отлов рыб.	16
2.3 Обработка отолитов.....	17
2.4 Биохимический анализ мышечной ткани	17
2.5 Газовая хроматография	18
3. Результаты и обсуждение	20
3.1 Влияние кормовой базы на состав и содержание жирных кислот гольцах р. <i>Salvelinus</i>	20
3.2 Влияние пола на содержание жирных кислот гольцах р. <i>Salvelinus</i>	24
Глава 3.3. Влияние стадии онтогенеза на содержание жирных кислот гольцах р. <i>Salvelinus</i>	26
Глава 3.4. Влияние возраста на содержание жирных кислот гольцах р. <i>Salvelinus</i>	27
Заключение.....	31
Выводы	33
Список используемых сокращений	34
5. Список используемых источников	35

Введение

В современном мире остро стоит проблема дефицита омега-3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). В первую очередь, это связано с преобладанием в рационе современного человека омега-6 кислот, которые в избытке содержатся в таких продуктах питания как: зерновые культуры, мясная продукция, выращенная с использованием кормов, основным ингредиентом которых являются все те же зерновые (Гладышев, 2012; Sushchik et al., 2020). Изменение баланса жирных кислот в сторону омега-6, по некоторым данным, привело к серьезным проблемам с сердечно-сосудистой системой, возникновению различных воспалительных заболеваний и нарушениям в развитии нервной ткани, обусловленных недостатком омега-3 ПНЖК (Гладышев, 2012). На основании многочисленных исследований, ВОЗ установила нормы потребления омега-3 ПНЖК, которое составляет 0,5-1 г эйкозапентаеновой (ЭПК) и докозагексаеновой (ДГК) кислот для взрослого человека в сутки (Arts et al., 2001).

Источников омега-3 ПНЖК для организмов в биосфере намного меньше, чем омега-6. Главным источником омега-3 является мировой океан, в частности рыбы, являющиеся основным поставщиком омега-3 для человека и животных (Гладышев, 2012; Sushchik et al., 2020). Однако, на сегодняшний день, морские экосистемы уже не могут в полной мере обеспечить человечество ценными омега-3 ПНЖК. Это прежде всего связано с увеличением численности населения и сокращением уловов морских рыб. В связи с чем, ведется активный поиск альтернативных источников омега-3 ПНЖК в биосфере (Гладышев, 2012).

Как известно, пресноводные рыбы, бедны омега-3 ПНЖК, однако у некоторых представителей лососеобразных были выявлены высокие содержания ЭПК и ДГК. Так, например, *Coregonus lavaretus* (Linnaeus, 1758)

имеет порядка 10-17 мг/г сырой массы суммарного значения ЭПК и ДГК (Sushchik et al., 2020; Gladyshev et al., 2017), *Salvelinus namaycush* (Walbaum, 1792) 11 мг/г (Gladyshev et al., 2017) и рекордного содержания у *Salvelinus boganidae* (Berg, 1926) 32,78 мг/г (Гладышев и др., 2018).

В свою очередь, до сих пор не установлено, какой фактор обуславливает высокое содержание ЭПК и ДГК в мышечной ткани рыб, поскольку у видов рыб из одного озера, занимающих близкую трофическую позицию, содержание ЭПК и ДГК может существенно отличаться- *S. boganidae* 30 мг/г, а у *S.drjagini* 12 мг/г (Gladyshev et al., 2022). Поскольку данные виды рыб являются потенциальными объектами аквакультуры, для их использования в качестве источника омега-3 ПНЖК, необходимо понимать механизмы и факторы, влияющие на содержание физиологически важных ПНЖК, в частности ЭПК и ДГК.

Цель работы: выявить факторы оказывающие влияние на содержание ЭПК и ДГК в мышечной ткани гольцов р. *Salvelinus* из озера Собачье.

Задачи:

1. Оценить особенности жирнокислотного профиля гольцов из озер Собачье и Кета и их связь с трофическим статусом рыб.
2. Провести сравнительный анализ абсолютного содержания ЭПК и ДГК в мышечной ткани гольцов разных видов / форм.
3. Оценить влияние половой принадлежности, стадии онтогенеза и возраста рыб на содержание ЭПК и ДГК в мышечной ткани гольцов.

1. Обзор литературы

1.1 Роль ПНЖК для человека

Жирные кислоты (ЖК) являются основным компонентом липидов человеческого организма. ЖК разделяются на 2 группы: насыщенные и ненасыщенные. К первой группе относятся ЖК, не имеющие в углеводородной цепи двойных связей, тогда как, жирные кислоты второй группы имеют одну (мононенасыщенные) или несколько (полиненасыщенные) двойных связей (Вае et al, 2023).

Поскольку современный рацион человека основан на высокоэффективном сельском хозяйстве, с продуктами питания в организм поступает огромное количество омега-6 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). Его источниками является зерновые культуры, которые, в свою очередь, являются основой для производства сельскохозяйственных кормов для выращивания животных (мясная продукция) и мучных изделий изготовленных непосредственно из зерновых компонентов (макароны, хлеб и т. д) (Гладышев, 2012). С омега-3 все обстоит иначе, источники данной группы кислот для человека - рыбы, являются ограниченным ресурсом, отдельные виды рыб имеют низкое содержание важных ПНЖК, или не годятся для употребления человеком (Гладышев, 2012, Вае et al., 2023). Основными источниками омега-3 в биосфере являются водные микроводоросли, которые продуцируют большую часть омега-3 длинноцепочечных ПНЖК. Водные беспозвоночные накапливают жирные кислоты в тканях, потребляя фитопланктон. Он, в свою очередь, является основным компонентом питания многих видов рыб, что делает рыбу основным источником омега-3 кислот для человека (Вае et al., 2023).

Функции ПНЖК семейства омега-3 и омега-6 в человеческом организме существенно различаются. Омега-6 ПНЖК являются

предшественниками липидных медиаторов - эйкозаноидов, которые регулируют процессы размножения, роста, иммунитета, углеводного обмена и т.д. Омега-3 ПНЖК служат физиологически активными эффекторами сердечно-сосудистой системы, а докозагексаеновая кислота (ДГК) является важнейшим компонентом мозга и зрительных тканей (Сушик, 2008). В ходе широкомасштабных медицинских исследований было установлено, что ПНЖК-терапия, которая включает в себя дополнительное употребление, примерно, 1 грамма эйкозапентаеновой кислоты (ЭПК)+ДГК в сутки снижает смертность от сердечно-сосудистых заболеваний примерно на 45% (Arts et al., 2001)

1.2 Источники омега-3 ПНЖК

Микроводоросли характеризуются огромным спектром ЖК и являются одними из их первичных продуцентов. В том числе, продуцируются незаменимые альфа-линоленовая кислота (АЛК) и линолевая кислота (ЛК), а также частично незаменимые ЭПК и ДГК. Фотосинтезирующие гидробионты отдельных таксонов имеют различия как по содержанию незаменимых ПНЖК, так и по общему жирнокислотному составу. Так наиболее ценными источниками ЭПК для консументов в пресноводных экосистемах являются представители таких отделов фитопланктона как: диатомовые и криптофитовые; ДГК- динофитовые; а также зеленые водоросли и цианобактерии как источник С18 омега-3 ПНЖК (Сушик,2008)

Следующим звеном передачи ПНЖК выступает зоопланктон, способный синтезировать ЭПК и ДГК из С18 кислот, полученных с пищей. Данные представители, как правило, не отличаются видоспецифичностью ЖК состава, по сравнению с первичными продуцентами. Отличия в спектрах ЖК, по большей части, обуславливаются объектами питания гидробионтов [19]. В свою очередь, количественное содержание ЖК определяется рядом других факторов - условиями окружающей среды, в частности температурой, таксономической принадлежностью и т.д (Рудченко, 2018).

Зообентос является еще одним не менее важным звеном в переносе ЖК, имеющим способность к их модификации. В свою очередь, зообентос имеет большую вариабельность ЖК состава в таксономическом отношении, по сравнению с представителями зоопланктона, а также, имеет большее разнообразие в объектах питания (Kelly, Scheibling, 2012).

Бентосные личинки амфибионтных насекомых являются неотъемлемой частью питания рыб. Их жирнокислотные профили разнообразны, однако содержание ДГК в них крайне низкое, тогда как ЭПК присутствует в больших количествах, что позволяет данным представителям служить источником ЭПК для последующих трофических уровней (Makhutova et al., 2016).

Помимо собственного синтеза, большой интерес представляет так называемый перенос ПНЖК по трофическим уровням, поскольку на более высоких трофических уровнях именно он, по большей части, определяет состав и содержание ЖК ввиду преобладания роли трофических источников ЖК, в частности ПНЖК. Существует ряд исследований оценивающих перенос ЖК по трофическим сетям, где в результате экспериментальных работ было выяснено, что эффективность переноса ЖК зоопланктоном, а в частности ПНЖК, ниже, чем таковая у углерода. Однако, на эффективность переноса влияет масса факторов, от видового состава и биомассы гидробионтов и первичных продуцентов, до присутствия рыб в экосистеме (Фенева и др., 2021). Однако, на различных трофических уровнях наблюдается тенденция к снижению эффективности передачи короткоцепочечных ЖК по сравнению с переносом ПНЖК, эффективность переноса которых выше (Gladyshev et al., 2011). Рыбы, как представитель наиболее высокой трофической позиции водоемов могут прямым образом влиять на эффективность переноса ЖК, увеличивая ее многократно. Так, наличие рыб в экосистеме увеличивает эффективность переноса ЭПК в 12 раз, а ДГК в 7,4 раза (Фенева и др., 2021).

Подводя итог, можно сказать, что эффективность переноса ЖК, в частности ПНЖК, величина не постоянная и может варьировать в зависимости от видового состава как первичных продуцентов, так и консументов, наибольшей эффективностью переноса обладают ДГК и ЭПК, тогда как основные ЖК преимущественно используются как источник энергии (Фенева и др., 2021)

1.3 ПНЖК в рыбах

Как уже отмечалось ранее, рыбы традиционно считаются основным источником омега-3 ПНЖК для человека, однако не все рыбы обладают равной биохимической ценностью (Гладышев, 2012). На количество ценных ЭПК и ДГК в тканях рыб оказывают влияние различные факторы. Прежде всего, содержание отдельных ЖК связано со способностью к эндогенному биосинтезу длинноцепочечных ПНЖК из С18 ПНЖК (Xie et al., 2021). Поскольку ЛК и АЛК являются незаменимыми, они поступают в организм рыб с пищевыми объектами. Далее, линолевая и альфа-линоленовая кислоты используются для синтеза длинноцепочечных ПНЖК- ЭПК, ДГК и арахидоновой кислоты (АРК); синтез которых происходит с разной интенсивностью. ЭПК и ДГК за счет своей физиологической активности являются более ценными для рыб, тогда как АРК, ЛК и АЛК имеют менее важное метаболическое значение у рыб (Bell, Tocher, 2009; Кормилец, 2019).

В свою очередь, многие ЖК присутствующие в тканях рыб могут быть получены непосредственно из кормовых объектов, однако даже полученные с пищей ЖК могут претерпевать изменения, в том числе, сжигаться в процессе β -окисления (Henderson, 1996).

Жирные кислоты, поступающие в организм рыб из пищи и, синтезированные эндогенно, являются субстратами различных ферментативных систем. Однако активность данных систем, хоть и присутствует у всех рыб, но отличается своей интенсивностью. Это может

быть связано с видовой принадлежностью, пищевым и физиологическим статусом рыбы (Henderson, 1996). В более современных исследованиях, авторы выделяют группы факторов влияющих на содержание ПНЖК в биомассе рыб — это экологический, физиологический и филогенетический (Vasconi et al., 2015).

Зачастую, больший интерес к изучению содержания ПНЖК представляет мышечная ткань, поскольку именно она употребляется в пищу, однако содержание ЖК в различных тканях отличается (Makhutova, Stoyanov, 2021; Albrecht-Ruiz, Salas-Maldonado, 2015). Примером может служить исследование различных тканей байкальского хариуса (*Thymallus baicalensis*), которое показало статистически значимые различия в суммарном содержании ЭПК+ДГК в исследованных тканях. Наибольшим содержанием в 100 мг/г обладала жировая ткань хариуса (*Thymallus baicalensis*), значение ЭПК+ДГК которой превышало в 10-30 раз значения в других тканях. Головной мозг, женские половые железы, печень и сердце имели содержание 10,1- 14,6 мг/г; а кишечник и мышечная ткань, обладали наименьшими показателями и имели содержание 3-5,2 мг/г (Makhutova, Stoyanov, 2021). Мышечная ткань рыб имеет разное содержание ПНЖК - белые мышцы содержат большее процентное содержание n-3 ПНЖК, а красные более высокое абсолютное содержание ЭПК+ДГК (Albrecht-Ruiz, Salas-Maldonado, 2015).

Различные особенности представителей ихтиофауны также могут влиять на содержание ЭПК и ДГК. Одной из таких особенностей является тип плавания рыб. Существуют работы, в которых была выявлена положительная корреляция между скоростью плавания рыб и содержанием ДГК в мышечной ткани. Авторы отмечают, что данный фактор может объяснять высокое содержание ЭПК и ДГК в мышечной ткани представителей сельдеобразных и мигрирующих лососеобразных (Hulbert, 2007; Gladyshev et al., 2018).

В литературе можно обнаружить очень противоречивый фактор, возможно, оказывающий влияние на содержание ЭПК и ДГК — это температура. В лабораторных условиях у одних видов рыб при понижении температуры увеличивается количество ДГК, у других видов подобных изменений не наблюдается. Тогда как в естественной среде было обнаружено повышенное содержание ЭПК и ДГК у представителей холодных вод, по сравнению с тепловодными. В других же исследованиях этот факт не подтвердился- у рыб холодных мест обитания повышенного уровня ЭПК и ДГК замечено не было (Gladyshev et al., 2018).

Прежде всего, отличия длинноцепочечных ПНЖК, в частности суммарного значения ЭПК и ДГК, связаны с видовой принадлежностью, поскольку можно назвать явных рекордсменов- сайра *Cololabis saira* (36 мг/г), боганидская паляя *Salvelinus boganidie* (32,8 мг/г), перуанская сардина *Sardinops sagax* (25,6 мг/г); а также рыб с наименьшим суммарным содержанием ЭПК+ДГК- это скаты бабочки *Gymnura spp* (0,12 мг/г), белый толстолобик *Hypophthalmichthys molitrix* (0,85 мг/г), карась золотой *Carassius carassius* (0,8 мг/г) (Гладышев, 2012; Кормилец, 2019). Особый интерес представляет отряд Salmoniformes ввиду вариабельности содержания ПНЖК как среди отдельных видов, так и существенных отличий в содержании внутри одного вида (Gladyshev et al., 2013; Gladyshev et al., 2022) (Таблица 1). Еще одним важным фактором, определяющим интерес к представителям данного отряда, является популярность лососеобразных как объекта аквакультуры. Различные представители естественных экосистем являются потенциальными объектами аквакультуры.

Не так давно был выявлен абсолютный рекорд содержания ЭПК и ДГК среди пресноводных видов рыб у боганидской паляи (*Salvelinus boganidae*) озера Собачье, содержание ЭПК+ДГК, в которой составило 32,78 мг/г [35]. В свою очередь, гольцы других форм таким высоким содержанием ПНЖК в мышечной ткани не отличались: содержание ЭПК+ДГК карликовой

глубоководной формы *Salvelinus alpinus complex* гольца «пучеглазки» составило 4,99 мг/г, а гольца Дрягина *Salvelinus drjagini*- порядка 13 мг/г (Gladyshev et al., 2022).

Таблица.1. Содержание ЭПК и ДГК отдельных представителей отряда Salmoniformes

Вид	ЭПК	ДГК	ЭПК+ДГК	Источник
Арктический голец (<i>Salvelinus alpinus</i>)	1,3	2,8	4,1	Gladyshev et al., 2013
Радужная форель (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	0,9	3,1	4	Gladyshev et al., 2013
Буряя форель (<i>Salmo trutta</i>)	0,9	3,5	4,4	Gladyshev et al., 2013
Радужная форель (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	5,2	10,8	16	Heissenberger et al., 2010
Кумжа (<i>Salmo trutta</i>)	3,6	15,3	18,9	Heissenberger et al., 2010
Гонец (<i>Salvelinus alpinus</i>)	11,9	18	29,9	Heissenberger et al., 2010
Боганидский голец (<i>Salvelinus boganidae</i>)	6,1	14,9	21	Gladyshev et al., 2022
Гонец Дрягина (<i>Salvelinus drjagini</i>)	3,1	9,6	12,7	Gladyshev et al., 2022
Гонец пучеглазка (<i>Salvelinus alpinus complex</i>)	2	3,8	5,8	Gladyshev et al., 2022

Последнее десятилетие наблюдается сокращение объемов вылова ценных морских рыб, что свидетельствует о пределе рыбных ресурсов океана. Это подтверждают отчеты ФАО. Так, роста уловов не наблюдается уже более полувека, тогда как в последние четыре года (2016-2020) наблюдается снижение уловов ценных источников ПНЖК- сельдеобразных *Clupeiformes*. В свою очередь, аквакультура имеет тенденцию к росту. На сегодняшний день, объем продукции аквакультуры превысил объемы вылова, однако основной вклад вносят представители семейства карповые *Cyprinidae*, которые содержат ПНЖК лишь в небольших количествах (ФАО, 2021).

Ввиду истощаемости природных ресурсов и масштабного перелома морских рыб, которые являются основным источником длинноцепочечных ПНЖК, пресноводные рыбы, содержащие большое количество ПНЖК, представляют интерес. Особого внимания при этом заслуживают гольцы рода *Salvelinus* в виду их вариабельности в уровнях ПНЖК внутри одной экосистемы. Соответственно, виды с наибольшим содержанием омега-3 ПНЖК могут стать потенциальными объектами аквакультурного

выращивания (Гладышев и др., 2018; Gladyshev et al., 2018; Gladyshev et al., 2022).

1.4 Разнообразие гольцов рода *Salvelinus*

Гольцы рода *Salvelinus* имеют циркумполярное распространение и встречаются от Исландии до Норвегии на западе и Гренландии на востоке.

В водоемах полуострова Таймыр выделяют 4 эндемичных вида гольцов рода *Salvelinus*- *S. tolmachoffi* (Berg, 1926) есейская паля из озера Есей в бассейне реки Хатанги, *S. drjagini* (Logashev, 1940) голец Дрягина из озера Мелкое в бассейне реки Пясины, *S. boganidae* (Berg, 1926) боганидская паля из озера Боганидское в бассейне реки Хатанги и *S. taimyricus* (Michin, 1949) таймырский голец из озера Таймыр (Савваитова, 1989). Однако другие исследователи объединяют гольцов таймырских озер под одним названием *Salvelinus alpinus complex* (Мина, 1986), к которым относятся все вышеперечисленные виды гольца. Однако, деление всё же происходит, но не на видовом уровне, а на уровне форм одного и того же вида. Между тем, те же авторы предполагают независимое происхождение видов в каждом из озёр (Пичугин, 2009). Данное объединение не случайно, поскольку исследования, приводившиеся на основании краниологии, анализа кормовой базы и морфометрии говорят о сходстве различных форм гольца по многочисленным признакам. Авторы отмечают склонность к формообразованию и отсутствию репродуктивной изоляции (Савваитова 1980; Васильева 1980).

По многочисленным литературным данным, в систематике арктических гольцов существует проблема идентификации видов. Поскольку, зачастую, особи имеющие явные морфологические отличия являются генетически неотличимыми и занимают одну нишу (Романов, 2003, Гордеева и др., 2010). Особенностью данного рода является образование различных форм, занимающих различные биотопы и, как следствие, разделение по кормовым объектам (Гордеева, 2010; Савваитова, 1989; Алексеев, 2016; Романов, 2003).

Зачастую, все проблемы с идентификацией связаны с выбором той или иной концепции вида.

Гольцы данной группы характеризуются так же различными уровнями суммарных значений ЭПК и ДГК, варьирующих в пределах 4,99-32,78 мг/г, что делает их потенциально интересной группой для изучения как факторов влияющих на содержание ЭПК и ДГК, так и потенциальных объектов искусственного воспроизводства (Гладышев и др.,2018; Gladyshev M. I. et al., 2022).

2. Материалы и методы

2. 1. Характеристика района работ.

Оз. Собачье является частью Норило-Пясинской системы озёр Таймырского полуострова на западе плато Путорана. Это озеро горного типа, ледниково-тектонического происхождения, длина которого составляет 46 км, а ширина до 4 км, с максимальной глубиной 162 м и площадью 99 км². Оно сообщается с озерами Мелкое и Глубокое. В озеро впадает р. Хоронен, который берёт начало в горных ледниках плато Путорана. Начало ледостава наблюдается в конце октября, начале ноября; а ледоход в июне (Пармузин и др., 1981; Рудковский, Бочарова, 2007).

Оз. Собачье располагается ниже уровня мирового океана и является олиготрофным, где водная растительность развита слабо и представлена рдестом и нитчатыми водорослями (доминируют диатомовые водоросли) (Романов, 2004). Основными компонентами бентоса являются гаммариды (46%), личинки тендипедит (31%) и олигохеты (15%). В зоопланктонном сообществе наиболее распространены коловратки, копеподы, кладоцеры (Рудковский, Бочарова, 2007). Ихтиофауна представлена следующими видами- валёк (*Prosopium cylindraceum*), арктический голец (*Salvelinus alpinus complex*), ряпушка (*Coregonus sardinella*), восточносибирский хариус (*Thymallus arcticus pallasii*), обыкновенная щука (*Esox lucius*), однако промысловое значение представляет лишь один вид- ряпушка (*Coregonus sardinella*) (Романов, 2004).

Озеро Кета является вторым по величине на плато Путорана расположено в 160 км от города Норильск. Площадь озера составляет более 452 км², имеет ширину от 3 до 14 км, а глубину более 180 метров. Температура у поверхности озера в летнее время года может достигать 17 °С и 3-4 °С в придонных слоях. Ледостав происходит в октябре-ноябре, а ледоход в июне-июле. Из озера вытекает река Рыбная (Карабаева, 1966).

Ихтиофауна озера сходна с ихтиофауной других озер Норило-пясинской системы за исключением отсутствия в нем муксуна (*Coregonus muksun*), чира (*Coregonus nasus*), тугуна (*Coregonus tugun*) и сига валька (*Prosopium cylindraceum*) (Романов, 2021).

2.2 Отлов рыб.

Отлов рыбы производился жаберными сетями с диаметром ячеи 60-80 мм. Ловля производилась в разных частях водоемов на разной глубине. Сети выставлялись перпендикулярно береговой линии, отлов рыб производился как в дневное, так и в ночное время сток. Интервал проверки сетей составлял от 2 до 12 часов.

Все пойманные особи фотографировались на белом/зеленом фоне с прикреплением номера. Для каждой особи был проведен полный биологический анализ, который включал измерение общей длины (L), промысловой длины (l), определена общая масса (W) и масса тела без внутренностей (w). У всех отловленных гольцов определялись видовая принадлежность или принадлежность к определенной форме, пол, стадия зрелости гонад, возраст, осмотр тканей и органов на наличие паразитов и отклонений в развитии (Правдин, 1966).

Всего за период 2020-2022 было отловлено 40 разноразмерных особей гольцов р.*Salvelinus* из озера Собачье и 2 особи из озера Кета.

Возраст каждой из особей определялся по отолитам, которые были отобраны и обработаны по стандартной методике (Campana, 2001).

Для определения состава жирных кислот и их количественного содержания в съедобной биомассе, у каждой особи отбирали образцы мышечной ткани под спинным плавником массой 0,5-2 г согласно установленной методике (Sushchik, 2007). Далее, определяли точную массу пробы и фиксировали её в смеси хлороформ-метанол (2:1, по объему; общий объём 3 мл) в стеклянную банку с герметично закрывающейся химически

инертной крышкой (Fisherbrand, США). После чего, пробы хранились при температуре -20°C и транспортировали в лабораторию для дальнейшей обработки.

2.3 Обработка отолитов.

Обработка отолитов включала III этапа. Первый — это подготовка отолита к обработке и приготовление препарата. Вторым этапом- лабораторный, он включал обработку отолитов и определение годовых колец. Третий этап- фотографирование отолита и определение возраста.

На первом этапе отолиты помещали в емкость с 10%-ным раствором гипохлорита натрия (NaOCl) на 10-15 минут для отделения остатков ткани и иных частиц. Оставшиеся частицы убирались при помощи пинцета и ватного диска.

Вторым этапом, все отолиты были наклеены на предметные стёкла при помощи эпоксидной смолы и оставались до полного высыхания на 24-72 часа. После полного затвердевания смолы, была выполнена влажная полировка отолитов шлифовальной бумагой на основе карбида кремния gritностью 300-3000. Далее, препарат рассматривался под стереомикроскопом (ЛОМО МСП-1), на подготовленный препарат предварительно наносили каплю глицерина. После чего, производилось определение годовых колец.

На третьем этапе делали несколько фотографий препарата (3-5) с разной резкостью для получения максимально контрастности колец, после чего определялся возраст и данные формировались в отдельные таблицы.

2.4 Биохимический анализ мышечной ткани

Для определения состава и содержания жирных кислот в мышечной ткани гольцов была произведена гомогенизация ткани с последующей экстракцией липидов (Gladyshev et al., 2015). Количественное определение

жирных кислот на единицу массы мышечной ткани было произведено с добавлением внутреннего стандарта в пробу, в роли которой выступала нонадекановая кислота, в концентрации 1 мг/мл, соотношение стандарт/проба составляли 1 к 1000. Далее, проба была гомогенизирована в течении 10 минут путём перетирания ткани в ступке в смеси хлороформ/метанол (2 к 1), после чего экстракты были пропущены через слой безводного сульфата натрия (Na_2SO_4) для удаления имеющейся влаги. Полученные экстракты испарялись на роторно-вакуумном испарителе при температуре 35°C. После выпаривания, в течении полутора часов была выполнена кислотная трансэтерификация в смеси метанол/серная кислота (в соотношении 40/1), и добавлением трёх капель бензола для стабилизации липидов, на водяной бане при температуре 85°C. После чего, в пробу добавлен 1 мл дистиллята и 2-4 мл гексана, полученная смесь встряхивалась, гексановая фаза, содержащая метиловые эфиры жирных кислот промывалась водой. Далее, произведено осушение в делительной воронке путём пропускания через слой безводного сульфата натрия, после чего гексан удалялся вакуумом при 35°C. Полученные пробы хранились при температуре -20°C до исследования методом газовой хроматографии.

2.5 Газовая хроматография

Анализ метиловых эфиров жирных кислот проведён на газовом хроматографе с масспектрометрическим детектором. В качестве несущего газа использован гелий, ввод производился с делением потока, внутренний диаметр капиллярной колонки составит 0,25 мм, а длина 30 м. Процесс включал 2 подъёма температуры — это подъём от 100 до 190°C, скорость подъёма температуры составляла 3 °C / мин, после чего на протяжении 5 минут находилась в изотермическом состоянии, после чего осуществлялся подъём от 190 до 230 °C, где скорость повышения температуры составляла 10 °C/мин, после чего на протяжении 20 минут находилась в изотермическом состоянии. Сканирование проводилось в диапазоне от 45 до 450 атомарных

единиц, температура инжектора составляла 250 °С, температура интерфейса 280 °С, а энергия ионизации детектора 70 эВ. Далее, полученные на хроматограммах пики метиловых эфиров ЖК сравнивались со временем удерживания стандартов и спектрами базы данных NIST2005.

2.6 Статистическая обработка материала

Статистическая обработка материала включала подсчет средних процентных и абсолютных уровней жирных кислот и стандартной ошибки для каждого вида/формы гольцов в Microsoft Excel 2016. Далее, был проведен однофакторный дисперсионный анализ с последующим post-hoc тестом по Фишеру в Statistica 9.0. Для проверки влияния возраста на абсолютное содержание ЭПК и ДГК, была построена линейная регрессионная модель в среде R с использованием стандартного пакета анализа данных.

По всем полученным данным были построены схемы с использованием пакета «ggplot2» в среде R.

Выводы

1. Жирнокислотный профиль гольцов озера Собачье отличался от жирнокислотного профиля гольцов из озера Кета. Выявленные различия были вызваны не особенностями питания исследованных гольцов, а разной видоспецифичной жирностью у исследованных видов/форм гольцов.

2. Суммарное содержание ЭПК и ДГК в мышечной ткани исследуемых гольцов составило $10,49 \pm 0,8$ мг/г для гольца Дрягина, $9,13 \pm 0,91$ мг/г для боганидской палии и $2,2 \pm 0,81$ для арктического гольца.

3. Стадия зрелости оказывала достоверное влияние на содержание ЭПК и ДГК в мышечной ткани гольцов оз. Собачье. Для ювенильных особей содержание составило $2,96 \pm 0,57$ мг/г, для особей пропускающих нерест $8,34 \pm 0,68$ мг/г и $12,41 \pm 1,38$ мг/г для нерестующих особей. Значительное увеличение содержания ЭПК и ДГК наблюдается у гольцов в возрасте 5+ лет и далее сохраняется на стабильно высоком уровне. Влияние пола на содержание ЭПК и ДГК в мышечной ткани не выявлено.

Список используемых сокращений

АЛК- α -линоленовая кислота

АРК- арахидоновая кислота

ВОЗ- Всемирная Ассоциация Здравоохранения

ДГК- докозогоксаеновая кислота

ЖК- жирные кислоты

ЛК- линолевая кислота

МНЖК- мононенасыщенные жирные кислоты

НЖК- насыщенные жирные кислоты

ПНЖК- полиненасыщенные жирные кислоты

ЭПК- эйкозапентаеновая кислота

5. Список используемых источников

1. Алексеев С. С. Распространение, разнообразие и диверсификация арктических гольцов *Salvelinus alpinus* (L.) complex (Salmoniformes, Salmonidae) Сибири / С. С. Алексеев // Дисс. на соиск. уч. степени доктора биол. наук. М.: ФГБНУ ИБР им. НК Кольцова РАН. – 2016.
2. Артамонова В. С. Связь содержания полиненасыщенных жирных кислот в мышечной ткани с длительностью эмбриогенеза лососевидных рыб (Salmonoidei) / В. С. Артамонова, А. А. Махров, Н. Н. Сущик, М. И. Гладышев, Ю. Ю. Дгебуадзе // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. – 2020. Т. 491. – №. 1. – 113-116.
3. Гладышев М. И. Незаменимые полиненасыщенные жирные кислоты и их пищевые источники для человека / М. И. Гладышев // Журнал сибирского федерального университета. Биология. – 2012. – Т. 5. – №. 4. – С. 352-386.
4. Гладышев М. И. Сравнительный анализ содержания омега-3 полиненасыщенных жирных кислот в пище и мышечной ткани рыб из аквакультуры и природных местообитаний / М. И. Гладышев, Л. А. Глущенко, О. Н. Махутова, А. Е. Рудченко, С. П. Шулепина, О. П. Дубовская, Н. Н. Сущик // Сибирский экологический журнал. – 2018. – Т. 25. – №. 3. – С. 325-339.
5. Гордеева Н. В. Генетическая дифференциация арктических гольцов *Salvelinus alpinus* complex Забайкалья, выявленная по микросателлитным маркерам / Н. В. Гордеева, А. Г. Осинев, С. С. Алексеев, А. Н. Матвеев, В. П. Самусенок // Вопросы ихтиологии. – 2010. – Т. 50. – №. 3. – С. 293-304.
6. Заделёнов В. А. Ихтиофауна больших норильских озер (Кутарамакан, Лама, Собачье) // Рецензент: д. г. н., профессор АА Тишков
Ответственные редакторы: д. б. н., член-корр. РАЕН ЛА Колпащиков, д. б. н.

АА Романов Редакционная коллегия: ВВ Матасов, ЕБ Поспелова, СП Харитонов, МЮ Федосов, МГ Бондарь (отв. секретарь). – 2015. – С. 116.

7. Заделёнов В. А., Шадрин Е. Н., Матасов В. В. Гольцы Таймырского полуострова (обзор) //Рыбоводство и рыбное хозяйство. – 2017. – №. 12. – С. 19-28.

8. Карпов В. А. Состав и содержание жирных кислот в гольцах р. *Salvelinus* из оз. Собачье и оз. Кета [Электронный ресурс] : выпускная квалификационная работа бакалавра : 06.03.01 / В. А. Карпов. — Красноярск : СФУ, 2021

9. Кормилец О. Н. Жирные кислоты в трофических сетях экосистем внутренних вод [Электронный ресурс] : автореферат диссертации ... доктора биологических наук / О. Н. Кормилец. — Красноярск : СФУ, 2019.

10. Мина М. В. Микроэволюция рыб: эволюционные аспекты фенетического разнообразия. – Наука, 1986.

11. Пармузин, Ю.П. Географическое положение и особенности гор Путорана / Ю.П. Пармузин // Путоранская озерная провинция. – Новосибирск: Наука, 1975. – 14–18.

12. Пичугин М. Ю. Развитие искусственного гибрида и выявление элементов репродуктивной изоляции между симпатрическими формами гольца Дрягина и пучеглазки *Salvelinus alpinus complex* (Salmonidae) из горного озера Собачье (Таймыр)/М. Ю. Пичугин //Вопросы ихтиологии. – 2009. – Т. 49. – №. 2. – С. 240-253.

13. Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных). – 1966.

14. Романов, А.А. Ихтиофауна плато Путорана / в: Фауна позвоночных животных плато Путорана // под ред. А.А. Романова. - Москва, 2004. - 29-89.

15. Романов В. И. Морфологическая характеристика сибирского хариуса озера Кета (Таймыр, бассейн р.Пясины)/ А. А. Романов// Ресурсы дичи и рыбы. Использование и воспроизводство. – 2021. - С.181.

16. Рудковский А. И., Бочарова Т. А. Инвазии промысловых рыб озера Собачье на юге Таймыра / А. И. Рудковский, Т. А. Бочарова //Ихтиологические исследования на внутренних водоемах. – 2007. – С. 131-133.
17. Рудченко А. Е. Роль трофических факторов в формировании жирнокислотного состава рыб, обитающих в водоемах Красноярского края : дис. – Сибирский федеральный университет, 2018.
18. Савваитова К. А. Арктические гольцы:(Структура популяционных систем, перспективы хозяйственного использования). / К. А. Савваитова //Агропромиздат, 1989.
19. Сущик Н. Н. Роль незаменимых жирных кислот в трофометаболических взаимодействиях в пресноводных экосистемах (обзор) / Н. Н. Сущик //Журнал общей биологии. – 2008. Т. 69. – №. 4. – 299-316.
20. Карабаева Г. С. Ресурсы поверхностных вод СССР: Гидрологическая изученность. Т. 16. Ангаро-Енисейский район. Вып. 1. Енисей / под ред. Г. С. Карабаева. — Л.: Гидро.
21. Фенева И. Ю. Влияние рыб на эффективность передачи углерода, полиненасыщенных жирных кислот и биогенных элементов от фитопланктона к зоопланктону в эвтрофных условиях / И. Ю. Фенева, Е. Г. Сахарова, М. И. Гладышев, Н. Н. Сущик, З. И. Горелышева, М. Карпович //Зоологический журнал. – 2021. – Т. 100. – №. 2. – С. 194-208.
22. Фенева И. Ю. Эффективность переноса биологически ценных веществ от фитопланктона к планктонным ракообразным в мезотрофных условиях / И. Ю. Фенева, Е. Г. Сахарова, Ж. Ф. Бусева, М. И. Гладышев, Н. Н. Сущик, З. И. Горелышева, В. П. Семенченко //Биология внутренних вод. – 2021. – №. 1. – С. 35-46.
23. Albrecht-Ruiz M. Chemical composition of light and dark muscle of Peruvian anchovy (*Engraulis ringens*) and its seasonal variation / M. Albrecht-Ruiz, A. Salas-Maldonado //Journal of Aquatic Food Product Technology. – 2015. – Т. 24. – №. 2. – С. 191-196.

24. Arts M. T. "Essential fatty acids" in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution / M. T. Arts, R. G. Ackman, B. J. Holub // *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. – 2001. T. 58. – №. 1. – 122-137.
25. Bae J. H. The Potential Cardiometabolic Effects of Long-Chain Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids: Recent Updates and Controversies / J. H. Bae, H. Lim, S. Lim // *Advances in Nutrition*. – 2023.
26. Bell M. V. Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in aquatic ecosystems: general pathways and new directions / M. V. Bell, D. R. Tocher // *Lipids in aquatic ecosystems*. – 2009. – C. 211-236.
27. Campana S. E. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods / S. E. Campana // *Journal of fish biology*. – 2001. T. 59. – №. 2. – 197-242.
28. Gladyshev M. I. Comparison of polyunsaturated fatty acids content in fillets of anadromous and landlocked sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* / M. I. Gladyshev, E. V. Lepskaya, N. N. Sushchik, O. N. Makhutova, G. S. Kalachova, K. K. Malyshevskaya, G. N. Markevich // *Journal of Food Science*. – 2012. T. 77. – №. 12. – 1307-C1310.
29. Gladyshev M. I. Differences in organic matter and bacterioplankton between sections of the largest Arctic river: Mosaic or continuum? / M. I. Gladyshev, O. V. Kolmakova, A. P. Tolomeev, O. V. Anishchenko, O. N. Makhutova, A. A. Kolmakova, N. N. Sushchik // *Limnology and Oceanography*. – 2015. T. 60. – №. 4. – 1314-1331.
30. Gladyshev M. I. Efficiency of transfer of essential polyunsaturated fatty acids versus organic carbon from producers to consumers in a eutrophic reservoir / M. I. Gladyshev, N. N. Sushchik, O. V. Anishchenko, O. N. Makhutova, V. I. Kolmakov, G. S. Kalachova, O. P. Dubovskaya, O. P. // *Oecologia*. – 2011. – T. 165. – C. 521-531.
31. Gladyshev M. I. Fatty acid composition and contents of fish of genus *Salvelinus* from natural ecosystems and aquaculture / M. I. Gladyshev, A. A.

Makhrov, I. V. Baydarov, S. S. Safonova, V. M. Golod, S. S. Alekseyev, N. N. Sushchik, //Biomolecules. – 2022. – T. 12. – №. 1. – C. 144.

32. Gladyshev M. I. Fatty acid composition and contents of seven commercial fish species of genus *Coregonus* from Russian Subarctic water bodies / M. I. Gladyshev, N. N. Sushchik, O. N. Makhutova, L. A. Glushchenko, A. E. Rudchenko, A. A. Makhrov, Y. Y. Dgebuadze //Lipids. – 2017. – T. 52. – C. 1033-1044.

33. Gladyshev M. I. Meta-analysis of factors associated with omega-3 fatty acid contents of wild fish / M. I. Gladyshev, N. N. Sushchik, A. P. Tolomeev, Y. Y. Dgebuadze //Reviews in Fish Biology and Fisheries. – 2018. – T. 28. – №. 2. – C. 277-299.

34. Gladyshev M. I. Production of EPA and DHA in aquatic ecosystems and their transfer to the land / M. I. Gladyshev, N. N. Sushchik, O. N. Makhutova //Prostaglandins & other lipid mediators. – 2013. – T. 107. – C. 117-126.

35. Henderson R. J. Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids / R. J. Henderson //Archives of Animal Nutrition. – 1996. – T. 49. – №. 1. – C. 5-22.

36. Hulbert A. J. Membrane fatty acids as pacemakers of animal metabolism / A. J. Hulbert //Lipids. – 2007. – T. 42. – №. 9. – C. 811-819.

37. Kelly J. R. Fatty acids as dietary tracers in benthic food webs / J. R. Kelly, R. E. Scheibling //Marine Ecology Progress Series. – 2012. – T. 446. – C. 1-22.

38. Liu H. Comparison of the effects of 3 kinds of oils rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids on glycolipid metabolism and lipoprotein subfractions / H. Liu, F. Wang, H. Xia, D. Pan, L. Yang, S. Wang, G. Sun //Food Science and Human Wellness. – 2023. – T. 12. – №. 6. – C. 2221-2231.

39. Luzzana U. Seasonal variations in fat content and fatty acid composition of male and female coregonid 'bondella' from Lake Maggiore and landlocked shad from Lake Como (Northern Italy) / U. Luzzana, G. Serrini, V.

Moretti, P. Grimaldi, M. A. Paleari, F. Valfre //Journal of Fish Biology. – 1996. – T. 48. – №. 3. – C. 352-366.

40. Makhutova O. N. Fatty acid content and composition in tissues of Baikal grayling (*Thymallus baicalensis*), with a special focus on DHA synthesis / O. N. Makhutova, K. N. Stoyanov //Aquaculture International. – 2021. – T. 29. – №. 6. – C. 2415-2433.

41. Makhutova, O. N. Content of polyunsaturated fatty acids essential for fish nutrition in zoobenthos species / O.N. Makhutova, S.P. Shulepina, T.A. Sharapova, O.P. Dubovskaya, N.N. Sushchik, M.A. Baturina, E.G. Pryanichnikova, G.S. Kalachova, M.I. Gladyshev // Freshwater Science. - 2016. - V. 35. - P. 1222-1234.

42. Sushchik N. N. Comparison of fatty acid contents in major lipid classes of seven salmonid species from Siberian Arctic lakes / N. N. Sushchik, O. N. Makhutova, A. E. Rudchenko, L. A. Glushchenko, S. P. Shulepina, A. A. Kolmakova, M. I. Gladyshev //Biomolecules. – 2020. – T. 10. – №. 3. – C. 419.

43. Sushchik, N. N. Seasonal dynamics of fatty acid content of a common food fish from the Yenisei river, Siberian grayling, *Thymallus arcticus* / N.N. Sushchik, M.I. Gladyshev, G.S. Kalachova // Food Chem. – 2007 – V. 104 –1353–1358.

44. Tocher D. R. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish / D. R. Tocher //Aquaculture research. – 2010. – T. 41. – №. 5. – C. 717-732.

45. Vasconi M. Fatty acid composition of freshwater wild fish in subalpine lakes: a comparative study / M. Vasconi, F. Caprino, F. Bellagamba, M. L. Busatto, C. Bernardi, C. Puzzi, V. M. Morati //Lipids. – 2015. T. 50. – №. 3. – 283-302.

46. Wall R. Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids / R. Wall, R. P. Ross, G. F. Fitzgerald, C. Stanton //Nutrition reviews. – 2010. – T. 68. – №. 5. – C. 280-289.

47. Xie D. Regulation of long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis in teleost fish / D. Xie, C. Chen, Y. Dong, C. You, S. Wang, O. Monroig, Y. Li //Progress in Lipid Research. – 2021. – T. 82. – C. 101095.

Министерство науки и высшего образования РФ

Федеральное государственное автономное

образовательное учреждение высшего образования

«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологий

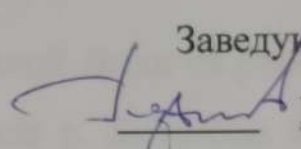
институт

Кафедра водных и наземных экосистем

кафедра

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой



М.И. Гладышев

подпись

инициалы, фамилия

« ____ » _____ 20 ____ г

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Состав и содержание жирных кислот гольцов р. *Salvelinus* из озера Собачье

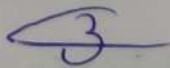
06.04.01 «Биология»

код и наименование направления

06.04.01.04 «Гидробиология и ихтиология»

код и наименование магистерской программы

Руководитель



подпись, дата

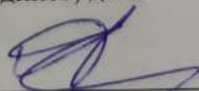
доцент, к.б.н

должность, учёная степень

И. В. Зуев

инициалы, фамилия

Руководитель



подпись, дата

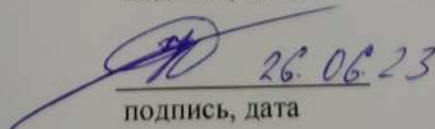
доцент, к.б.н

должность, учёная степень

А. Е. Рудченко

инициалы, фамилия

Выпускник

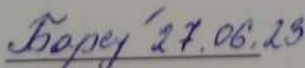


подпись, дата

В. А. Карпов

инициалы, фамилия

Рецензент



подпись, дата

зав.лаб., к.б.н

должность, учёная степень

О. В. Барсукова

инициалы, фамилия