

На правах рукописи



Кормилец Олеся Николаевна

**ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ В ТРОФИЧЕСКИХ СЕТЯХ
ЭКОСИСТЕМ ВНУТРЕННИХ ВОД**

Специальность 03.02.10 – Гидробиология (биологические науки)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Красноярск – 2019

Работа выполнена в Институте биофизики Сибирского отделения Российской академии наук - обособленном подразделении Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук».

Научный консультант: доктор биологических наук, профессор
Гладышев Михаил Иванович

Официальные оппоненты: **Немова Нина Николаевна**, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, руководитель научного направления ФГБУН ФИЦ «Карельский научный центр Российской академии наук».

Лось Дмитрий Анатольевич, доктор биологических наук, профессор, директор ФГБУН «Института физиологии растений им. К. А. Тимирязева» РАН.

Каратаев Александр Юрьевич, доктор биологических наук, директор Центра по изучению Великих озёр Государственного колледжа штата Нью-Йорк г. Буффало, США.

Ведущая организация: ФГБУН Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина Российской академии наук.

Защита состоится 8 октября 2019 года в 10:00 часов на заседании Диссертационного совета Д 999.119.02 на базе ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет» и ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» по адресу: 660041, г. Красноярск, пр. Свободный 79, ауд. Р8-06.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет» и на сайте организации <http://www.sfu-kras.ru>

Автореферат разослан “__” _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Глушченко Л.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ:

Актуальность

Оценка потоков органического вещества (органического углерода) по трофическим цепям водных экосистем и между водными и наземными экосистемами является одной из ключевых задач экологии в целом и гидроэкологии в частности. Помимо определения количества органического вещества, исследование его биохимического качества и закономерностей перемещения физиологически ценных органических веществ по трофическим цепям водных экосистем, а также перенос этих веществ из водных в наземные экосистемы, является не менее актуальной задачей. В течение последних десятилетий длинноцепочечные полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) семейства омега-3 (ω 3 или n-3), а именно эйкозапентаеновая (ЭПК, 20:5n-3) и докозагексаеновая (ДГК, 22:6n-3), признаны веществами высокой физиологической ценности для животных разных таксономических групп, включая человека (Lauritzen et al., 2001; Kris-Etherton et al., 2002; Wall et al., 2010). Производятся эти ценные молекулы главным образом определёнными видами микроводорослей и далее по трофическим цепям транспортируются от продуцентов к консументам вплоть до человека (Uttaro, 2006; Lands, 2009). Поэтому особый интерес представляет выявление закономерностей транспорта именно этих веществ по трофическим цепям водных и наземных экосистем, а также выявление факторов, влияющих на их продуцирование в разных экосистемах, и определение наиболее ценных источников ЭПК и ДГК для животных, включая человека.

Наряду с высокой физиологической ценностью, жирные кислоты (ЖК) зарекомендовали себя как наиболее точный инструмент для исследования трофических взаимодействий в водных экосистемах по сравнению со стандартными гидробиологическими методами (например, методом визуального микроскопического анализа содержимого кишечника). Хорошо известно, что различные группы водорослей (Bacillariophyta, Chlorophyta, Cryptophyta и т.д.) и бактерий (грамположительные, грамотрицательные, сульфатредуцирующие и т.д.) содержат специфические жирные кислоты, которые широко используются в качестве маркеров данных групп организмов (Desvillettes et al., 1997; Kelly, Scheibling, 2012; Galloway et al., 2015). Во многих исследованиях было показано, что в отличие от водорослей и бактерий, состав ПНЖК животных полностью зависит от потреблённой пищи (Weers et al., 1997; Brett et al., 2006; Torres-Ruiz et al., 2010). Однако в последнее время появляются работы, демонстрирующие наличие специфических маркеров у животных, а также ставится вопрос о связи таксономической принадлежности животных и их жирнокислотных профилей (Kraffe et al., 2008; Lau et al., 2012). Очевидно, что поиск специфических маркеров крупных таксономических групп животных и выявление факторов, влияющих на их жирнокислотный состав, является

актуальным и важным направлением в исследовании трофических взаимодействий в водных и наземных экосистемах.

В последние годы развиваются новые комбинированные методы, нацеленные на увеличение точности идентификации источников происхождения органического вещества в трофических сетях и устранение недостатков существующих методов. Одним из таких методов является комбинация изотопного метода и метода маркерных жирных кислот – изотопный анализ отдельных веществ (ИАОВ). Оценка адекватности данного метода для исследования трофических взаимодействий, однозначность интерпретации полученных результатов и выявление всех возможных допущений и закономерностей изменения изотопного состава жирных кислот при их перемещении по трофическим цепям остаются важными и актуальными проблемами. Апробация метода ИАОВ в экспериментальных условиях при контролируемой диете и в полевых исследованиях способна внести существенный вклад в понимание граничных условий применения данного метода.

Цель работы - установить значимость качественной оценки органического вещества, а именно состава и содержания жирных кислот, для выявления трофической структуры водных экосистем и определения величины потоков этих веществ, поступающих к консументам разных трофических уровней, включая человека.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи**:

1. Уточнить положение консументов в трофической сети на основании маркерных жирных кислот и их изотопного состава.
2. Установить количественные закономерности переноса жирных кислот по трофическим сетям водных экосистем.
3. Определить ключевые факторы, влияющие на состав и содержание жирных кислот некоторых водных консументов.
4. Определить пищевую ценность различных видов гидробионтов для высших консументов, а именно рыб, на основе содержания длинноцепочечных омега-3 ПНЖК.
5. Проверить, действительно ли продукция водных экосистем является основным источником омега-3 ПНЖК для человека по сравнению с продукцией наземных экосистем.

Положения, выносимые на защиту

1. Всеядные виды водных консументов, считавшиеся неспособными к избирательному питанию, селективно потребляют разные пищевые объекты.
2. Эффективность переноса физиологически ценных n-3 ПНЖК по трофическим цепям от продуцентов к консументам существенно выше

эффективности переноса остальных жирных кислот и общего органического углерода.

3. Приоритет в составе и содержании жирных кислот крупных таксономических групп планктонных и бентосных беспозвоночных принадлежит филогенетическому фактору, трофический фактор имеет подчинённое значение.

4. Такие факторы риска для водных экосистем, как потепление и инвазии чужеродных видов потенциально приводят к снижению качества кормовой базы планктоядных и бентоядных рыб в отношении содержания омега-3 ПНЖК.

5. Основным источником физиологически ценных n-3 ПНЖК для человека является рыба и рыбные продукты, а потенциальные наземные источники этих веществ не могут являться альтернативой рыбе и служат лишь дополнительным источником n-3 ПНЖК.

Научная новизна

Определены составы, относительные и абсолютные содержания жирных кислот у более чем 100 видов организмов из континентальных водоёмов и водотоков, включая микроводоросли, водный мох, представителей ветвистоусых и веслоногих ракообразных, амфипод, амфибионтных насекомых, кольчатых и плоских червей, двустворчатых и брюхоногих моллюсков, губок, амфибий, рыб, а также некоторых представителей наземной фауны: околородных птиц и сельскохозяйственных животных. На основании жирнокислотного состава водных и амфибионтных животных определены их спектры питания.

Впервые обнаружена связь жирнокислотного состава бентосных беспозвоночных с их таксономической принадлежностью. Для некоторых таксонов выявлены потенциальные маркерные ЖК, которые могут быть использованы при изучении трофических взаимодействий в водных экосистемах. Впервые определены таксоны бентосных беспозвоночных, обладающие высокой и низкой пищевой ценностью в отношении n-3 ПНЖК для рыб. На основании этих данных выдвинуто предположение, что инвазивные виды, вытесняя аборигенные, снижают качество кормовой базы бентоядных рыб.

Впервые выявлена причина изменения пищевой ценности зоопланктона для рыб в отношении n-3 ПНЖК при изменении температуры воды.

Установлено, что изменчивость состава и содержания ЖК между популяциями одного вида у космополитных беспозвоночных определяется их спектрами питания. Впервые обнаружено влияние наличия хищников (рыб) в водоёмах на жирнокислотный состав и абсолютное содержание физиологически ценных n-3 ПНЖК жертвы.

Обнаружено, что наряду с хорошо известными объектами питания личинок амфибий (головастиков) в их рационе присутствует пища животного

происхождения. Данный результат важен для понимания функционирования экосистем с низкой первичной продукцией, вызванной затенением литорали.

При апробации метода изотопного анализа отдельных веществ для изучения трофических взаимодействий в водных экосистемах в экспериментальных и полевых условиях было обнаружено, что данный метод не позволяет однозначно определить источники пищи. Установлено, что консументы имеют более низкие значения $\delta^{13}\text{C}$ жирных кислот, чем их пищевые источники, и во всех трофических звеньях незаменимые С18 ПНЖК имеют самые низкие значения $\delta^{13}\text{C}$ из всех ПНЖК.

Впервые рассчитана эффективность переноса n-3 ПНЖК между звеньями трофических цепей. Обнаружено, что эффективность переноса этих ПНЖК в трофических цепях водных экосистем и из водных в наземные экосистемы существенно выше эффективности переноса общего органического углерода. Установлено, что по составу жирных кислот рыб можно определить места их вылова. Определена пищевая ценность нерки и ряда консервированных рыб для человека в отношении n-3 ПНЖК.

В поиске наземных источников физиологически ценных n-3 ПНЖК была исследована печень некоторых сельскохозяйственных животных. Выяснено, что данный продукт не может являться альтернативой рыбе, но может использоваться как дополнительный источник ЭПК и ДГК в питании человека. Ключевым источником ЭПК и ДГК для человека, несомненно, остаётся рыба.

Теоретическая и практическая значимость

Обнаруженная более высокая эффективность переноса физиологически ценных n-3 ПНЖК по сравнению с общим углеродом и другими ПНЖК позволяет существенно уточнить основополагающий принцип экологической «пирамиды продукции».

Обнаруженные особенности ЖК состава и абсолютного содержания физиологически ценных n-3 ПНЖК крупных таксонов бентосных и планктонных беспозвоночных будут полезны для оценки биохимического качества кормовой базы рыб в различных водоёмах и водотоках. Полученные данные помогут прогнозировать изменение качества кормовой базы рыб и продукции n-3 ПНЖК водными экосистемами при смене видового состава зоопланктона и зообентоса, вызванного различными причинами: инвазией чужеродных видов, эвтрофированием водоёмов, антропогенным загрязнением и потеплением климата.

Выявленное влияние солёности воды и наличия хищников (рыб) в водоёмах на абсолютное содержание ЭПК и ДГК в гаммарусах позволит более рационально использовать небольшие солоноватоводные и безрыбные водоёмы как источники биологической продукции.

Обнаруженные в ходе исследований ЖК-маркеры рыб потенциально позволят выявлять фальсификат на прилавках рыбных магазинов.

Рассчитанная пищевая ценность в отношении n-3 ПНЖК консервированной рыбы и печени сельскохозяйственных животных может быть использована для диетологических рекомендаций населению России.

Апробация работы

Результаты диссертации докладывались на семинарах лаборатории экспериментальной гидроэкологии Института биофизики СО РАН (Красноярск, 2000-2018), на 8-ой Международной конференции по соленым озерам (Хакасия, пос. Жемчужный, 2002), на IX Съезде Гидробиологического общества при РАН (г. Тольятти, 2006), на Летнем съезде американского общества по лимнологии и океанографии ASLO (г. Сент Джонс, Канада, 2008), на 31-ом Конгрессе международного лимнологического общества SIL (г. Кейптаун, ЮАР, 2010), на 4-й международной конференции памяти Г. Г. Винберга «Современные проблемы водной экологии» (г. Санкт-Петербург, 2010), на 4-ой Европейской конференции по липидным медиаторам (г. Париж, Франция, 2012), на 32-ом Конгрессе международного лимнологического общества SIL (г. Будапешт, Венгрия, 2013), на 11-м Конгрессе международного общества по изучению жирных кислот и липидов ISSFAL (г. Стокгольм, Швеция, 2014), на XI Съезде Гидробиологического общества при РАН (г. Красноярск, 2014), на Конгрессе ассоциации наук о лимнологии и океанографии ASLO (г. Гранада, Испания, 2015), на 10-м Симпозиуме европейских пресноводных наук SEFS (г. Оломоуц, Чехия, 2017), на Летнем съезде ассоциации наук о лимнологии и океанографии ASLO (г. Виктория, Канада, 2018).

Публикации

Результаты работы представлены в 46 статьях в российских и международных журналах Web of Science, входящих в список ВАК.

Личный вклад автора

Соискателю принадлежит ведущая роль в разработке и реализации направления по определению структуры трофических сетей исследуемых водных экосистем, изучению влияния различных факторов на жирнокислотный состав и содержание беспозвоночных. Соискатель является организатором и непосредственным участником полевых экспедиций и экспериментальных работ, результаты которых вошли в диссертацию. Автор непосредственно выполнил биохимическую обработку всех проб для определения ЖК состава, провёл анализ данных и обобщил полученные результаты в виде научных статей.

Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность своему научному консультанту доктору биологических наук, профессору М. И. Гладышеву за научное руководство, добрые советы и помощь на всех этапах работы. Автор благодарен коллегам по лаборатории, участникам экспедиций и коллегам из

других научных организаций: д.б.н. Н. Н. Сущик, д.б.н. О. П. Дубовской, д.б.н. Г. С. Калачевой, д.б.н., проф. В. И. Колмакову, к.б.н. Е. С. Кравчук, к.б.н. О. В. Барсуковой (Анищенко), к.б.н. М. Ю. Трусовой, к.б.н. А. А. Колмаковой, д.б.н. Е. А. Ивановой, к.б.н., доц. С. П. Шулепиной, к.б.н. Л. А. Глущенко, к.б.н. Е. В. Борисовой, к.б.н. доц. И. В. Зуеву, к.б.н. А. П. Толмееву, А. В. Агееву, д.б.н. А. В. Крылову, к.б.н. Т. А. Шараповой, к.б.н. Е. Г. Пряничниковой, д.б.н., проф. А. А. Протасову, чл.-к. НАН Беларуси, д.б.н. А. П. Семенченко, к.б.н. Ж. Ф. Бусевой, к.б.н. В. И. Разлуцкому, к.б.н. Е. В. Лепской, к.б.н. Е. Б. Фефиловой, к.б.н. Ю. И. Губелит, О. Н. Кононовой, к.б.н. М. А. Батуриной, д.б.н. А. Ю. Харитонову, к.б.н. О. Н. Поповой, к.б.н. Ю. А. Юрченко, д.т.н. Г. А. Губаненко, д.б.н. Т. Д. Зинченко, проф. Р. Д. Гулати (Gulati R. D.), проф. М. Р. Уайлсу (Whiles M. R.).

Структура и объем работы

Диссертационная работа изложена на 350 страницах и включает 36 рисунков и 43 таблицы. Работа состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов и списка используемой литературы, списка сокращений. Первая глава представляет собой обзор литературы. Описание методов приведено во второй главе. Результаты исследований и их обсуждение представлены в четырёх главах. Список литературы содержит 716 источников, из них – 665 на английском языке.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ:

Глава 1. Жирные кислоты организмов континентальных вод: обзор литературы.

Жирные кислоты на протяжении продолжительного времени используются в разнообразных исследованиях в области биологии. Применение ЖК для изучения водных экосистем главным образом обусловлено их маркерным значением. Разные таксономические группы организмов, обитающие в водных экосистемах, содержат разные наборы ферментов, десатураз и элонгаз, позволяющие синтезировать специфические для конкретного таксона ЖК (Findlay, Dobbs, 1993; Napolitano, 1999; Dijkman, Kromkamp, 2006; Zhukova, 2007; Le Bodelier et al., 2009; Saito, Hashimoto, 2010; Taipale et al., 2013; Wang et al., 2014). В обзоре литературы рассмотрены основные пути синтеза ЖК и составы ЖК бактерий, фотосинтезирующих эукариот и прокариот, беспозвоночных и позвоночных гидробионтов. Отслеживая перемещение специфических ЖК по трофическим цепям, исследуют трофические взаимоотношения в водных экосистемах (Desvillettes et al., 1997; Leveille et al., 1997; Sauvanet et al., 2013). В настоящее время известны и применяются ЖК маркеры бактерий, водорослей, детрита, в том числе из остатков высших растений, некоторых животных (например, моллюсков и морских копепод) и хищного способа питания. Исследование ЖК профилей новых видов выявляет новые ЖК маркеры, расширяя

возможности использования этого метода. По сравнению с другими методами использование ЖК маркеров имеет ряд преимуществ: более точная идентификация состава пищевого комка и определение ассимилированного за продолжительный период времени органического вещества.

Помимо маркерного значения, некоторые ЖК, а именно арахидоновая (АРК, 20:4n-6), ЭПК и ДГК имеют высокую физиологическую ценность для животных разных трофических уровней, включая человека. Эффективность собственного синтеза данных ПНЖК у животных сильно варьируется. В целом основным источником ЭПК, ДГК и АРК для консументов является пища (Gerster, 1998; Plourde, Cunnane, 2007). Отсутствие этих ПНЖК в пище в течение длительного времени приводит к появлению различных патологий. Например, у рыб наблюдается ожирение печени и кишечника, эрозия плавников, жаберное кровотечение, искривление позвоночника, миокардит, снижение репродуктивного потенциала и т.д. (Sargent et al., 2002; Glencross, 2009). На уровне популяции отмечается снижение скорости роста и увеличение смертности у рыб (Glencross, 2009). В обзоре литературы подробно описаны потребности в ПНЖК у разных групп рыб, на разных стадиях развития и признаки дефицита ПНЖК. В отдельном разделе **Главы 1** рассматривается роль ПНЖК для здоровья человека. ЭПК и ДГК важны для нормального развития и функционирования сердечно-сосудистой и нервной систем человека, а также метаболизма в целом. Огромное число клинических и эпидемиологических исследований демонстрируют важность потребления необходимого количества n-3 ПНЖК (0.5-1 г/сутки согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения). Основным источником ЭПК и ДГК для человека является рыба. Разные виды рыб могут различаться по содержанию ЭПК+ДГК в сотни раз (Gladyshev et al., 2018). Порции рыб, содержащие 1 г ЭПК+ДГК, приведены в обзоре литературы. Промысловый вылов рыб и морепродуктов достиг своих пределов – около 100×10^6 тонн в год (Pauly et al., 2002). Человек в среднем потребляет 0.1 г ЭПК+ДГК в сутки, что в 10 раз меньше рекомендованной нормы. Очевидно, что уже сейчас человечество испытывает острый дефицит в этих физиологически ценных веществах. В настоящее время ведутся работы по поиску и производству альтернативных источников ЭПК и ДГК. Рассмотрены перспективы промышленного культивирования микроорганизмов, в том числе генетически модифицированных штаммов, синтезирующих n-3 ПНЖК, производства генно-модифицированных масличных культур растений и роль аквакультуры.

Глава 2. Район работ, материалы и методы исследований

В период с 2004 по 2018 гг. для биохимических анализов были собраны следующие пробы: планктонные ракообразные (13 видов кладоцер и 12 видов копепод) и их источник пищи – сестон; 68 видов бентосных беспозвоночных, представителей Trichoptera, Ephemeroptera, Diptera, Plecoptera, Odonata, Megaloptera, Coleoptera, Gammaridae, Mollusca, Hirudinea,

Oligochaeta, Turbellaria и Bryozoa; нерка (*Oncorhynchus nerka*) и её основной источник пищи – зоопланктон; головастики (*Lithobates clamitans*, *Lithobates catesbeianus* и *Pseudacris crucifer*), содержимое их кишечника и источники пищи головастиков – водные насекомые, зоопланктон, фитопланктон, перифитон и седименты; сестон и зоопланктон из вдхр. Бугач; густера (*Blicca bjoerkna*) из оз. Чистое и серая цапля (*Ardea cinerea*), гнездящаяся вблизи озера; консервы тихоокеанской сайры (*Cololabis saira*), балтийских шпротов (*Sprattus sprattus*) и тихоокеанской сельди (*Clupea harengus*); печень сельскохозяйственных животных (кур, свиней и коров). Пробы гидробионтов были отобраны из 35 водоёмов (озёр, водохранилищ и прудов) и 8 рек, расположенных на территории 6 стран: России (Красноярский край, Камчатский край, Республика Коми, Республика Хакасия, Тюменская и Ярославская области), Беларуси, Украины, Польши, Германии и США (Рисунок 1).

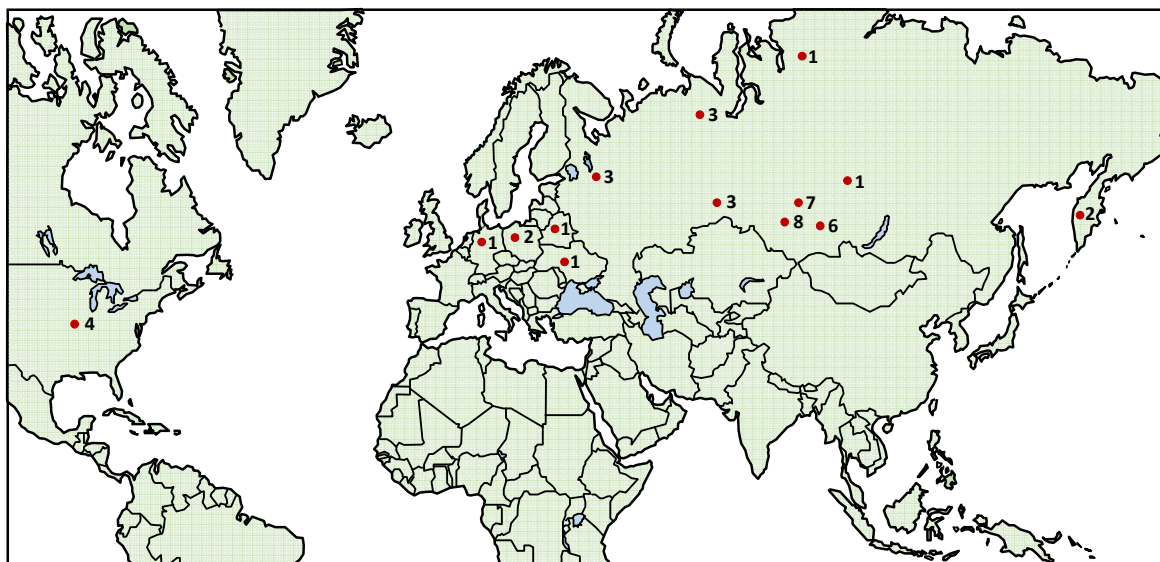


Рисунок 1. Карта районов сбора проб. Цифрами обозначено количество водоёмов (водотоков) в каждом районе, в которых были собраны пробы.

Проведён эксперимент на лабораторной культуре *Daphnia galeata* при контролируемой диете, включавшей зелёные (*Chlorella vulgaris*) и криптофитовые (*Cryptomonas* sp.) водоросли. В течение эксперимента были собраны пробы водорослей и рачков для анализа ЖК и ИАОВ.

В **Главе 2** подробно описана подготовка проб к анализу жирных кислот, стабильных изотопов углерода и азота, изотопному анализу ЖК, к анализу общего содержания углерода и азота, определению влажности.

Для **анализа жирных кислот** пробы гомогенизировали, липиды экстрагировали хлороформом-метанолом (2:1). Из полученных экстрактов удаляли воду и растворители. Затем проводили метилирование ЖК методом кислотного метанолиза. Анализ метиловых эфиров ЖК проводили на

газожидкостном хроматографе с масс-спектрометрическим детектором (ГЖХ-МС, модель 6890/5975С, "Agilent Technologies", США). Идентификацию пиков жирных кислот осуществляли сравнением полученных масс-спектров с масс-спектрами, имеющимися в базах данных Agilent (Wiley, NIST), а также сравнением времен удерживания с таковыми стандартов (Sigma, США). Для более точной идентификации некоторых мононенасыщенных и полиненасыщенных ЖК проводили дериватизацию этих ЖК с образованием диметилдисульфидных и диметилноксазолиновых производных моноенов и полиенов, соответственно (Christie, 2003). Относительное содержание ЖК определяли, как отношение площади пика определённой ЖК к сумме площадей всех ЖК. Абсолютное содержание ЖК рассчитывали через площадь пика С19:0, которая соответствовала известному количеству этой ЖК – внутреннего стандарта, добавленного перед биохимическими процедурами.

Для **изотопного анализа отдельных жирных кислот** использовались метиловые эфиры ЖК, полученные описанным выше методом. Изотопный состав метиловых эфиров ЖК анализировался на изотопном масс-спектрометре Delta V Plus (Thermo Fisher Scientific Corporation, США), сопряжённом с газовым хроматографом Trace GC Ultra (Thermo Electron Corporation, США).

Для **анализа стабильных изотопов углерода и азота** использовались образцы, высушенные при 70°C. Пробы анализировали с помощью изотопного масс-спектрометра Delta V Plus, сопряжённого с элементным анализатором (Flash EA 1112 Series, Thermo Electron Corporation, США).

Измерение **общего органического углерода и азота** в биологических образцах проводили на элементном анализаторе Flash EA 1112 NCSoil/MAS 200 (Thermo Quest, Италия).

Обработка проб фитопланктона, зоопланктона и зообентоса для идентификации видов и расчёта биомассы проводилась классическими гидробиологическими методами.

Расчёт урожая ПНЖК ($U_{\text{ПНЖК}}$) проводился по следующей формуле:

$$U_{\text{ПНЖК}} = \text{ПП} (P_{3/\text{п}}) \cdot \text{ПНЖК}/\text{С},$$

где ПП – первичная продукция (г С/м² в сутки), $P_{3/\text{п}}$ – продукция зоопланктона (г С/м² в сутки), ПНЖК/С – соотношение ПНЖК/С (мг/г) в сестоне и зоопланктоне.

Первичная продукция была рассчитана по концентрации хлорофилла а (Хл а), оценённого по его флуоресценции с помощью следующей формулы:

$$\text{ПП} = (\text{АЧ}^{\text{Cyan}} : I_{\text{пов}}) \cdot C_{\text{Хл а}}^{\text{Cyan}} \cdot I'_{\text{пов}} + (\text{АЧ}^{\text{Bac+Din}} : I_{\text{пов}}) \cdot C_{\text{Хл а}}^{\text{Bac+Din}} \cdot I'_{\text{пов}} + (\text{АЧ}^{\text{Chlor+Eugl}} : I_{\text{пов}}) \cdot C_{\text{Хл а}}^{\text{Chlor+Eugl}} \cdot I'_{\text{пов}},$$

где $C_{\text{Хл а}}^{\text{Cyan}}$, $C_{\text{Хл а}}^{\text{Bac+Din}}$ и $C_{\text{Хл а}}^{\text{Chlor+Eugl}}$ – концентрация Хл а Cyanophyta, Bacillariophyta + Dinophyta и Chlorophyta + Eugleniphyta, соответственно. АЧ – часовое ассимиляционное число, а $\text{АЧ}^{\text{Cyan}} : I_{\text{пов}}$, $\text{АЧ}^{\text{Bac+Din}} : I_{\text{пов}}$ и $\text{АЧ}^{\text{Chlor+Eugl}} : I_{\text{пов}}$ – показатели энергетической эффективности Хл а этих таксонов ($\text{мг O}_2 \cdot \text{м}^2 / (\text{мг Хл а} \cdot \text{МДж})$), $I'_{\text{пов}}$ – фотосинтетически активная радиация ($\text{МДж} / (\text{м}^2 \cdot \text{ч})$), поступающая на водную поверхность во время измерения концентрации Хл а (Колмаков и др., 2005; Gaevskiy et al., 2005).

Продукция зоопланктона была рассчитана с помощью регрессионной модели Stockwell, Johannsson (1997). При температуре воды выше 10°C использовали уравнение:

$$P_{3/\text{п}} = 10^{(-0.23 \log(M) - 0.73)} \cdot 1.12MN,$$

где $P_{3/\text{п}}$ – суточная продукция зоопланктона ($\text{мкг сухого веса} / \text{м}^2$), M – средний сухой вес особи вида / группы (мкг), N – численность (количество экземпляров под м^2).

При температуре воды ниже 10°C использовали уравнение:

$$P_{3/\text{п}} = 10^{(-0.26 \log(M) - 1.363)} \cdot 1.09MN$$

Эффективности переноса веществ по трофическим цепям были рассчитаны через соотношение первичной и вторичной продукции (Lindeman, 1942).

Трофическая позиция (ТП) консументов рассчитывалась по формуле (Vander Zanden et al., 2001):

$$\text{ТП}_x = (\delta^{15}\text{N}_x - \delta^{15}\text{N}_0) / \Delta\delta^{15}\text{N} + \text{ТП}_0,$$

где $\delta^{15}\text{N}_x$ – изотопное значение азота в консументе, для которого определяют ТП, $\Delta\delta^{15}\text{N}$ – константа фракционирования, равная 3.4‰, $\delta^{15}\text{N}_0$ – изотопное значение азота в первичном консументе, которому присваивается ТП_0 , равное 2. Консументу, имеющему самое низкое значение $\delta^{15}\text{N}$, присваивается ТП_0 (Lau et al., 2009).

Статистическая обработка данных была выполнена с помощью пакета STATISTICA 9 (StatSoft Inc., Талса, Оклахома, США).

Глава 3. Роль филогенетического и экологических факторов в формировании ЖК состава пресноводных беспозвоночных

Водные беспозвоночные являются основным кормовым объектом для рыб и, следовательно, основным источником физиологически ценных ПНЖК. ЖК состав водных беспозвоночных может зависеть от ряда факторов: таксономической принадлежности, стадии развития и экологических условий, таких как спектр питания, температура и солёность воды, конкуренция и др.

В **Главе 3** рассматривается влияние температуры воды и таксономической принадлежности на ЖК состав планктонных ракообразных (клагоцер и копепод). Клагоцеры и копеподы, а также их источник пищи – сестон были собраны в двух холодных регионах – горный массив Ергаки и

Большеземельская тундра, и в двух тёплых регионах умеренной климатической зоны – Европа: Республика Беларусь, Польша и Германия, и Южная Сибирь: Республика Хакасия и Красноярский край.

Для обнаружения влияния температуры на ЖК состав зоопланктона был проведён многомерный дискриминантный анализ процентного содержания ЖК в видах зоопланктона (Рис. 2). Первый корень выявил различия между крупными таксонами, копеподами и кладоцерами. Переменные, обеспечившие основной вклад в различия по первому корню, были 20:4n-6, 18:1n-7, 20:5n-3, 22:6n-3 и 22:5n-6 (Табл. 2).

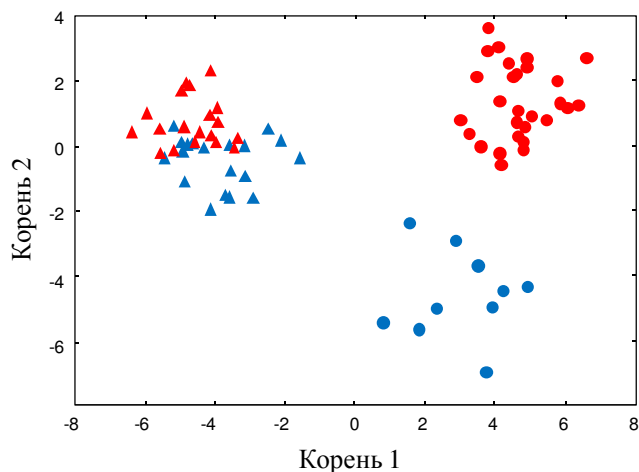


Рисунок 2. Результаты многомерного дискриминантного анализа процентного содержания ЖК в кладоцерах и копеподах из тепловодных (Т) и холодноводных (Х) водоёмов. Кружки красные - кладоцеры Т, кружки синие - кладоцеры Х, треугольники красные - копеподы Т, треугольники синие - копеподы Х.

Предмет анализа: параметр, животное, ЖК	Корень 1	Корень 2
Канонический <i>R</i>	0.975	0.887
χ -квадрат	338	162
Степени свободы	90	58
<i>P</i>	0.000000	0.000000
Канонические средние		
Кладоцеры (Т)	4.755	1.315
Кладоцеры (Х)	2.915	-4.491
Копеподы (Т)	-4.701	0.803
Копеподы (Х)	-3.841	-0.377
Коэффициенты структурных факторов		
14:0	-0.037	-0.327
18:0	0.059	0.162
18:1n-7	0.120	0.141
18:4n-3	-0.042	-0.249
20:0	0.047	0.229
20:4n-6	0.209	0.087
20:5n-3	0.100	-0.173
22:5n-6	-0.273	0.061
22:6n-3	-0.421	0.102

Таблица 2. Результаты многомерного дискриминантного анализа процентного содержания жирных кислот в кладоцерах и копеподах из тепловодных (Т) и холодноводных (Х) водоёмов. Представлены только переменные, обеспечившие основной вклад в различия по двум корням.

Процентное содержание 20:4n-6, 20:5n-3 и 18:1n-7 было выше в кладоцерах, а 22:6n-3 и 22:5n-6 – в копеподах. По второму дискриминантному корню были обнаружены различия между кладоцерами из тепловодных и холодноводных водоёмов (Табл. 2, Рис. 2). Основной вклад в данные различия внесли насыщенные жирные кислоты (20:0, 18:0 и 14:0) и 18:4n-3 (Табл. 2). Процентное содержание 14:0 и 18:4n-3 было достоверно выше в кладоцерах из холодноводных водоёмов, а процентное содержание 20:0 и 18:0 было достоверно выше в кладоцерах из тепловодных водоёмов. Кроме того, по второму корню отмечена тенденция к разделению копепод по ЖК составу на холодноводные и тепловодные, аналогично кладоцерам. Действительно, в копеподах из тёплых водоёмов, содержание 14:0 и 18:4n-3 было достоверно ниже, а содержание 18:0 и 18:1n-7 было достоверно выше, чем в холодноводных популяциях.

Обнаруженное более высокое содержание 14:0, 18:4n-3 и низкое содержание 18:0 в кладоцерах и копеподах из холодноводных местообитаний объясняется гомеовискозной адаптацией мембран животных к низким температурам (Sperfeld, Wacker, 2012). Более высокое содержание 18:1n-7 в сестоне и зоопланктоне из тепловодных водоёмов объясняется более высокой биомассой бактерий в водоёмах и более высокой долей бактерий в рационе зоопланктона из этих водоёмов. Дополнительно, мы обнаружили таксон-специфические особенности гомеовискозной адаптации, описанные в отдельном разделе **Главы 3**. Содержание 20:0 и 22:0 в кладоцерах из тепловодных водоёмов было достоверно выше, чем в кладоцерах из холодноводных водоёмов, тогда как процентное содержание этих кислот в копеподах из двух типов водоёмов достоверно не различалось. Напротив, кладоцеры из двух типов водоёмов не различались по содержанию 20:4n-6, в то время как копеподы из тепловодных водоёмов имели более высокое содержание этой ЖК, чем копеподы из холодноводных водоёмов. Содержание физиологически ценной ЭПК в кладоцерах из холодноводных водоёмов было достоверно выше, чем в кладоцерах из тепловодных водоёмов. Следовательно, ЭПК необходима кладоцерам не только для роста и размножения (Müller-Navarra et al., 2000; Ravet et al., 2003; Becker, Woersma, 2003, 2005; Gladyshev et al., 2006; Толмеев и др., 2012; Gladyshev et al., 2016), но и вероятно для поддержания текучести мембран при гомеовискозной адаптации.

Несмотря на обнаруженные различия внутри копепод и кладоцер связанные с гомеовискозной адаптацией ЖК состава мембран животных к изменению температуры среды эти различия оказались существенно ниже различий вызванных филогенетической принадлежностью видов.

Для выявления воздействия различных факторов на ЖК состав организмов, как правило, используется относительное содержание жирных кислот. Абсолютное содержание ЖК, а именно ЭПК и ДГК, и соотношение ПНЖК семейства n-3 и n-6 используется для определения качества пищи для консументов (Sargent et al., 1999; Tocher, 2003; Zakeri et al., 2011; Trushenski et

al., 2012; Emery et al., 2016). По абсолютному содержанию ЭПК и ДГК и соотношению n-3/n-6 пищевая ценность копепод для рыб была значительно выше, чем пищевая ценность кладоцер (Рис. 3).

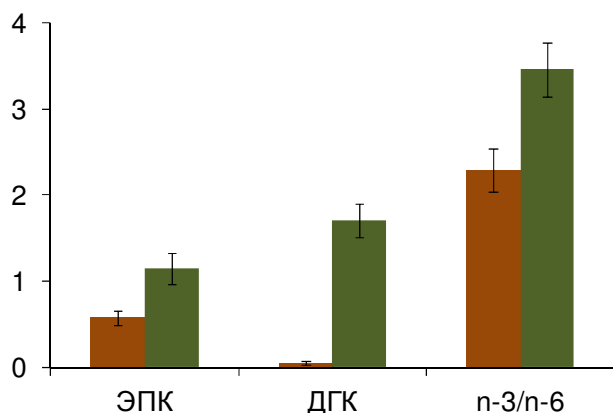


Рисунок 3. Среднее содержание ЭПК, ДГК (мг/г сырой массы, ± стандартная ошибка) и соотношения ПНЖК семейства n-3 и n-6 в кладоцерах (коричневые столбики) и копеподах (зелёные столбики) из тепловодных и холодноводных водоёмов.

По литературным (Hampton et al., 2008; Thompson et al., 2008; Visconti et al., 2008) и полученным нами (Табл. 3) данным в тепловодных водоёмах соотношение кладоцер и копепод значительно выше, чем в холодноводных водоёмах. Исходя из обнаруженного в нашей работе более высокого содержания ЭПК и ДГК в копеподах по сравнению с кладоцерами, можно заключить, что при увеличении температуры воды произойдёт снижение пищевой ценности зоопланктона – основного кормового объекта планктоядных рыб.

Таблица 3. Относительное содержание (% от суммы кладоцер и копепод) кладоцер и копепод из холодноводных (Х) и тепловодных (Т) озёр.

Озёра	Копеподы, %	Кладоцеры, %
Курильское (Х)	98.9	1.1
Ойское (Х)	87.0	13.0
Каровое (Х)	11.0	89.0
Большой Харбей (Х)	67.1	32.9
Головка (Х)	39.4	60.6
Дваозера (Х)	2.2	97.8
Километровое (Х)	30.2	69.8
Среднее по холодноводным озёрам	48.0	52.0
Обстерно (Т)	23.6	76.4
Нобисто (Т)	8.8	91.2
Горюшка (Т)	45.9	54.1
Лукомльское (Т)	26.2	73.8
Среднее по тепловодным озёрам	26.1	73.9

В отдельном разделе **Главы 3** рассматривается влияние таксономической принадлежности бентосных беспозвоночных на их жирнокислотный состав.

В кластерном анализе процентного содержания 33 количественно значимых ЖК большинство видов Insecta сформировали отдельный кластер (Рис. 4 (I)). Однако внутри кластера насекомых виды из отрядов

Ephemeroptera и Plecoptera имели тенденцию к образованию отдельных подкластеров (Рис. 4). ЖК составы видов Trichoptera и Diptera характеризовались высокой вариабельностью, по сравнению с остальными таксонами. В итоге виды из этих отрядов были разбросаны по всему кластерному дереву (Рис. 4).

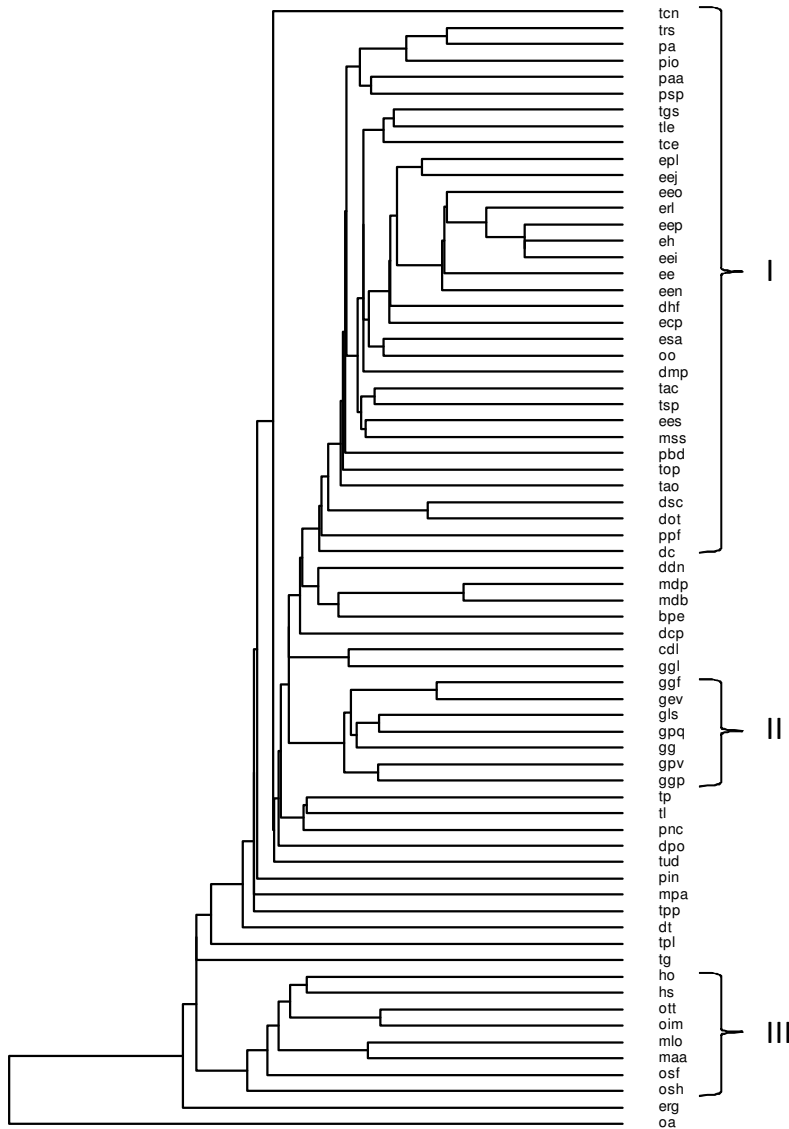


Рис. 4. Дендрограмма кластерного анализа процентного содержания количественно значимых ЖК в видах бентосных беспозвоночных.

Trichoptera: tcn – *C. nevae*, trs – *R. sibirica*, tgs – *G. sajanensis*, tle – Leptoceridae, tce – *C. excisa*, tac – *A. crymophila*, tsp – *S. personatum*, top – *O. potanini*, tao – *A. obsoleta*, tp – *Pseudostenophylax* sp., tl – Limnephilidae, tpp – *P. pusilla*, tpl – *P. latipennis*, tg – *Glossosoma* sp.;

Ephemeroptera: epl – *P. luteus*, eej – *E. joernensis*, eeo – *E. orientalis*, erl – *R. lepnevae*, eep – *E. pellucidus*, eh – Heptageniidae, eei – *E. ignita*, ee – *Ecdyonurus* sp., een – *E. nigridorsum*, ecp – *C. pseudorivulorum*, esa – *E. sachalinensis*, ees – *E. setigera*, erg – *R. grandifolia*; Diptera: dhf – *H. fuscipennis*, dmp – *M. pedellus*, dsc – *S. crassiforceps*, dot – *O.*

thienemanni, dc – *C. plumosus*, ddn – *D. nervosus*, dpo – *P. olivacea*, dcp – *C. piger*, dt – Tipulidae; Plecoptera: pa – *Agnatina* sp., pio – *I. obscura*, paa – *Arcynopteryx* sp., psp – *S. pusilla*, pbd – *D. bicaudata*, ppf – *P. flavotincta*, pnc – *N. cinerea*, pin – *I. nubecula*; Odonata: oo – *Ophiogomphus* sp., oa – Anizoptera; Megaloptera: mss – *S. sordida*; Coleoptera: cdl – *D. lapponicus*; Gammaridae: ggl – *G. lacustris*, ggf – *G. fasciatus*, gev – *E. viridis*, gls – *G. lacustris* saltwater, gpq – *P. quadrispinosa*, gg – *Gammarus* sp., gpv – *P. viridis*, ggp – *G. pulex*; Mollusca: mdp – *D. polymorpha*, mdb – *D. bugensis*, mlo – *L. ovata*, maa – *A. acronicus*, mpa – *P. amnicum*; Hirudinea: ho – *H. octoculata*, hs – *H. stagnalis*; Oligochaeta: ott – *T. tubifex*, oim – *I. michaelsoni*, osf – *S. ferox*, osh – *S. herringianus*; Turbellaria: tud – *Dendrocaelopsis* sp.; Bryozoa: bpe – *P. emarginata*.

Все виды Gammaridae объединились в отдельный кластер (Рис. 4 (II)). Отдельный кластер также сформировали представители Oligochaeta, Hirudinea и Gastropoda (Рис. 4 (III)), и, следовательно, их ЖК составы были сходными, но значительно отличались от ЖК составов остальных изученных животных. Независимо от местообитания, виды, принадлежащие к одному и тому же крупному таксону, были близки по жирнокислотным составам, тогда как крупные таксоны, например, Insecta, Gammaridae и Oligochaeta, отличались друг от друга даже при совместном обитании. Обитая в разных экосистемах, животные одного и того же вида либо более крупного таксона, например, семейства (Gammaridae) или отряда (Ephemeroptera) имели высокие содержания одних и тех же ЖК-маркеров водорослей, бактерий и другой пищи и, следовательно, выбирали сходные пищевые объекты, что косвенно подтверждает селективность питания бентосных беспозвоночных. Кроме того, некоторые исследованные таксоны имели высокое содержание специфических жирных кислот, которые либо отсутствовали в других таксонах, либо присутствовали в незначительных количествах. Предположительно 20:1n-13, 20:2n-6, 22:5n-3 и 22:6n-3 могут использоваться в качестве маркеров Mollusca, Hirudinea, Planariidae и Gammaridae, соответственно.

Таким образом, различия в потребностях ЖК, связанные с особенностями метаболизма и закреплённые генетически, способствуют формированию таксон-специфического состава жирных кислот. Очевидно, что таксономическая принадлежность бентосных беспозвоночных оказывает ключевое влияние на их ЖК состав.

Исследованные бентосные беспозвоночные различались не только по относительному, но и по абсолютному содержанию ЖК. Среди изученных таксонов, Ephemeroptera, Trichoptera, Gammaridae и Planariidae (*Dendrocaelopsis* sp.) имели высокие абсолютные содержания ЭПК+ДГК и высокие значения соотношения ПНЖК семейства n-3 и n-6, в то время как Bryozoa (*P. emarginata*), Oligochaeta, Mollusca (особенно Gastropoda), Hirudinea и Coleoptera (*D. lapponicus*) имели низкие значения этих показателей (Рис. 5).

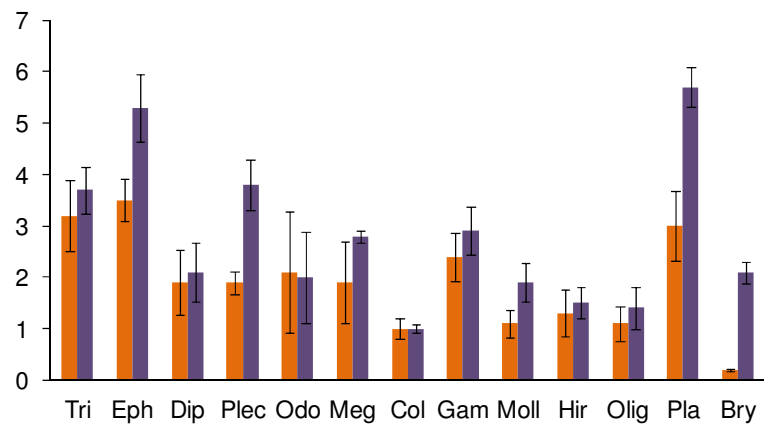


Рисунок 5. Среднее содержание ЭПК+ДГК (оранжевые столбики) (мг/г сырой массы, ± стандартная ошибка) и соотношение ПНЖК семейства n-3 и n-6 (фиолетовые столбики) в Trichoptera – Tri, Ephemeroptera – Eph, Diptera – Dip, Plecoptera – Plec, Odonata – Odo, Megaloptera – Meg, Coleoptera – Col, Gammaridae – Gam, Mollusca – Moll, Hirudinea – Hir, Oligochaeta – Olig, Planariidae – Pla, Bryozoa – Bry.

Следовательно, смена видового состава бентосного сообщества может привести к изменению качества кормовой базы бентоядных рыб. Одной из причин смены видового состава зообентоса является инвазия чужеродных видов бентосных беспозвоночных (Molloy et al., 1997, Burlakova et al., 2000). Большинство инвайдеров принадлежат к Mollusca и Crustacea, а также к Polychaeta, Oligochaeta, Hirudinea и Bryozoa, в то время как аборигенные животные, в основном представлены видами Insecta (Karatajev et al., 2009; Arbačiauskas et al., 2011). Согласно полученным нами данным по абсолютному содержанию ЭПК+ДГК и соотношению n-3/n-6, таксоны с большим числом инвазивных видов являются менее ценной пищей для рыб, чем аборигенные животные (личинки насекомых). Следовательно, в целом вытеснение личинок насекомых чужеродными видами зообентоса приведёт к снижению качества кормовой базы бентоядных рыб. Однако внутри некоторых крупных таксонов наблюдается высокая вариабельность содержания ЭПК и ДГК (Рис. 6). Например, среди моллюсков и гаммарусов есть виды с высоким содержанием ЭПК и/или ДГК, а среди насекомых встречаются виды с низким содержанием этих ПНЖК (Рис. 6). Поэтому для точной оценки изменения качества кормовой базы бентоядных рыб в ответ на изменение видового состава бентосного сообщества в конкретной экосистеме необходимо использовать данные по абсолютному содержанию ЭПК и ДГК в чужеродных и аборигенных видах исследуемой экосистемы.

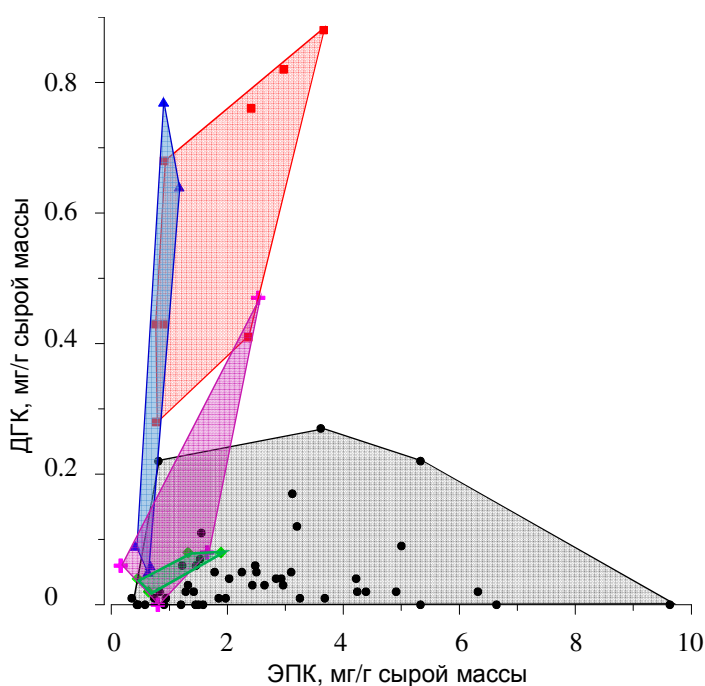


Рисунок 6. Абсолютное содержание эйкозапентаеновой (ЭПК) и докозагексаеновой (ДГК) кислот в бентосных беспозвоночных: синяя зона – Mollusca (число видов $n = 5$), красная зона – Gammaridae ($n = 8$), розовая зона – Hirudinea, Turbellaria и Bryozoa ($n = 4$), серая зона – Insecta ($n = 48$) и зелёная зона – Oligochaeta ($n = 4$).

Для определения влияния только экологических факторов (без влияния филогенетического фактора) на ЖК состав беспозвоночных были исследованы разные популяции одного вида гаммарид *Gammarus lacustris*,

обитающие в условиях, различающихся по температуре и солёности воды, а также по наличию / отсутствию хищников (рыбы) в водоёмах.

Был проведён канонический дискриминантный анализ процентного содержания 18 количественно значимых ЖК в популяциях *G. lacustris* из 10 озёр (Табл. 4, Рис. 7).

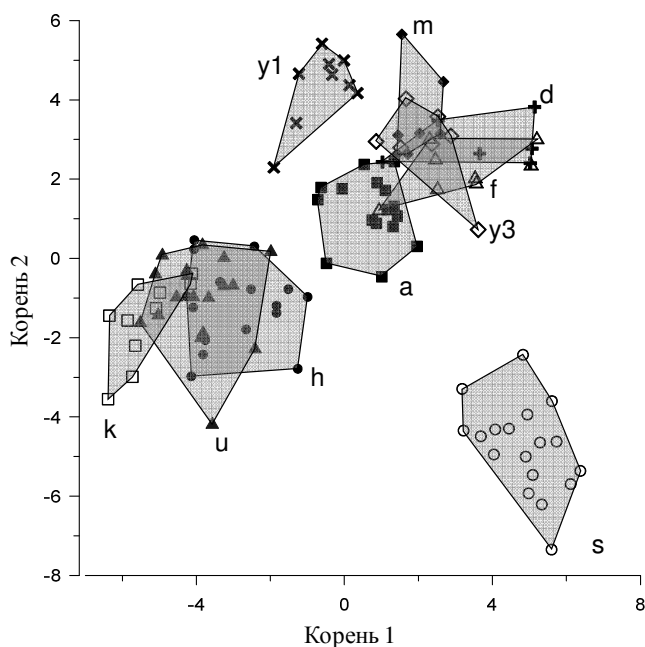


Рисунок. 7. Результаты многомерного дискриминантного анализа процентного содержания жирных кислот в популяциях *Gammarus lacustris*, обитающих в оз. Светлое (s), оз. Собачье (d), оз. Ши́ра (h), оз. Шунет (u), оз. Аникино (a), оз. Красненькое (k), оз. Фыркал (f), оз. Матарак (m), оз. Утичьё-1 (y1) и оз. Утичьё-3 (y3).

Предмет анализа (озеро, ЖК)	Корень 1	Корень 2
Канонический R	0.964	0.947
χ -(хи) квадрат	1071	808
Степени свободы	162	136
P	0.000000	0.000000
Канонические средние		
Светлое	4.859	-4.775
Ши́ра	-2.912	-1.184
Шунет	-3.909	-1.019
Аникино	0.738	1.216
Красненькое	-5.392	-1.556
Фыркал	3.197	2.260
Матарак	1.923	3.543
Утичьё-1	-0.589	4.319
Утичьё-3	2.205	2.865
Собачье	3.741	2.924
Коэффициенты структурных факторов		
17:0	-0.071	0.305
18:1n-7	-0.078	0.360
18:2n-6	0.394	-0.181
18:4n-3	0.077	-0.361
20:4n-3	-0.100	-0.301
20:5n-3	-0.189	0.095

Таблица 4. Результаты многомерного дискриминантного анализа процентного содержания жирных кислот в популяциях *Gammarus lacustris*, обитающих в исследованных озёрах. Представлены только переменные, обеспечившие основной вклад в различия по двум корням.

Первый дискриминантный корень выявил различия между популяциями *G. lacustris* из холодноводного пресноводного оз. Светлое и тепловодного минерализованного оз. Красненькое. Переменные, обеспечившие основной вклад в различия по первому корню, были 18:2n-6 – маркер зелёных микроводорослей и цианобактерий, и 20:5n-3 – маркер диатомей. Высокое содержание 18:2n-6 было обнаружено в популяции из оз. Светлое, а 20:5n-3 – в популяции из оз. Красненькое. Второй дискриминантный корень выявил различия между популяциями *G. lacustris* из минерализованного безрыбного оз. Утичье-1 и холодноводного пресноводного безрыбного оз. Светлое. Основной вклад в данные различия внесли 18:4n-3, 20:4n-3, 18:1n-7 и 17:0. Процентные содержания двух тетраеновых ЖК были высокими в гаммарусах из оз. Светлое, а процентные содержания двух бактериальных маркеров были высокими в гаммарусах из оз. Утичье-1. Дополнительно, дискриминантный анализ выявил сходство ЖК составов гаммарусов, обитающих во всех рыбных озёрах: Собачье, Аникино, Фыркал, Матарак и Утичье-3, а также сходство ЖК составов гаммарусов из трёх минерализованных тепловодных безрыбных озёр: Шира, Шунет и Красненькое.

В **Главе 3** представлен подробный анализ процентного содержания ЖК маркеров в гаммарусах и рассмотрены основные источники пищи гаммарид. На основании анализа ЖК маркеров и многомерного дискриминантного анализа можно заключить, что различия в ЖК составе популяций *G. lacustris*, главным образом, были вызваны различиями в спектрах питания исследуемых животных. Одни популяции предпочитали диатомовых водорослей, другие в основном потребляли криптофитовых, динофитовых и разные виды зелёных водорослей и цианобактерий, в рационе третьих существенную долю составлял зоопланктон или наземные беспозвоночные.

Выраженного влияния солёности и температуры воды на процентное содержание ЖК в гаммарусах обнаружено не было. Однако, присутствие хищников в водоёмах, вероятно, оказывало влияние на исследованные параметры. Обнаруженные различия процентного содержания основных ЖК в популяциях из безрыбных озёр и сходство между популяциями из рыбных озёр, возможно, объясняется тем, что в безрыбных озёрах гаммарусы селективно потребляли предпочитаемую ими пищу, в то время как гаммарусы из рыбных озёр были ограничены хищниками в передвижении и возможности поиска разнообразной пищи.

Исследованные популяции *G. lacustris* существенно различались по абсолютному содержанию ЭПК и ДГК. В популяциях, обитающих в минерализованных озёрах, абсолютное содержание ЭПК и ДГК было достоверно выше по сравнению с популяциями из пресноводных водоёмов (Табл. 5). Абсолютное содержание ЭПК и ДГК в *G. lacustris*, обитающих в безрыбных озёрах, было достоверно выше, чем в гаммарусах из рыбных озёр (Табл. 5). Напротив, различий между гаммарусами из холодноводных и тепловодных озёр по абсолютному содержанию ЭПК и ДГК обнаружено не

было (Табл. 5). В Главе 3 рассмотрены механизмы, объясняющие формирование высокого содержания ЭПК и ДГК в популяциях из безрыбных озёр.

Таблица 5. Средние значения ЭПК и ДГК (мг/г сырой массы, ± стандартная ошибка) в популяциях *Gammarus lacustris*, обитающих в рыбных озёрах (Рыбные), количество проб, n=44, в безрыбных озёрах (Безрыбные), n=71, тепловодных озёрах (Тёплые), n=91, холодноводных озёрах (Холодные), n=24, высокоминерализованных озёрах (Солёные), n=60 и пресноводных озёрах (Пресные), n=55.

	Рыбные	Безрыбные	<i>p</i>	Тёплые	Холодные	<i>p</i>	Солёные	Пресные	<i>p</i>
ЭПК	0.93±0.06	1.41±0.07	0.0000*	1.23±0.07	1.21±0.09	0.5938	1.40±0.09	1.04±0.06	0.0054*
ДГК	0.29±0.01	0.60±0.03	0.0000*	0.48±0.03	0.49±0.04	0.4594	0.58±0.03	0.37±0.02	0.0000*

* – различия достоверны по U-критерию Манна-Уитни

Глава 4. Исследование спектров питания пресноводных беспозвоночных и позвоночных животных с помощью ЖК маркеров

На основании ЖК маркеров проведено сравнение рационов двусторчатых моллюсков, совместно обитающих на протяжении длительного времени (*Dreissena polymorpha*, *Dreissena bugensis* и *Unio tumidus*), и моллюсков в условиях вытеснения одного вида другим (*D. bugensis* вытесняет *D. polymorpha*). Виды моллюсков из Каневского водохранилища, обитающие в условиях успешного сосуществования, различались по содержанию некоторых ЖК. В Главе 4 подробно рассмотрены ЖК профили исследуемых моллюсков. Согласно каноническому корреспондентному анализу моллюски отличались по ЖК составу от их потенциальных источников пищи – сестона и донных осадков (Рис. 8, ось абсцисс). Переменные, обеспечившие основной вклад в эти различия, были длинноцепочечные ПНЖК семейства n-3 и n-6, превалирующие в моллюсках, и маркеры фитопланктона (С16 ПНЖК) и детрита высших растений (24:0 и 26:0), превалирующие в сестоне и донных осадках.

Дополнительно были обнаружены различия между моллюсками рода *Dreissena* и *U. tumidus* (Рис. 8, ось ординат). Основной вклад в данные различия внесли бактериальная 18:1n-7 и физиологически ценная ДГК, превалирующие в дрейссенах, и 22:4n-6, 20:4n-6 и 22:3 Δ7,13,16, превалирующие в унионидах. Кроме того, по оси ординат очевидна тенденция к разделению сестона и донных осадков по ЖК составу, главным образом за счёт высокого содержания маркеров фитопланктона и бактерий (16:2n-4, 18:4n-3, 18:3n-3 и i15:0) в сестоне и маркера детрита (18:0) в донных осадках. Различия в ЖК составе между дрейссенами и унионидами преимущественно были вызваны различиями в спектрах питания этих моллюсков. Виды рода *Dreissena* потребляли планктонные организмы, в то время как *Unio* питались бентосными видами и детритом.

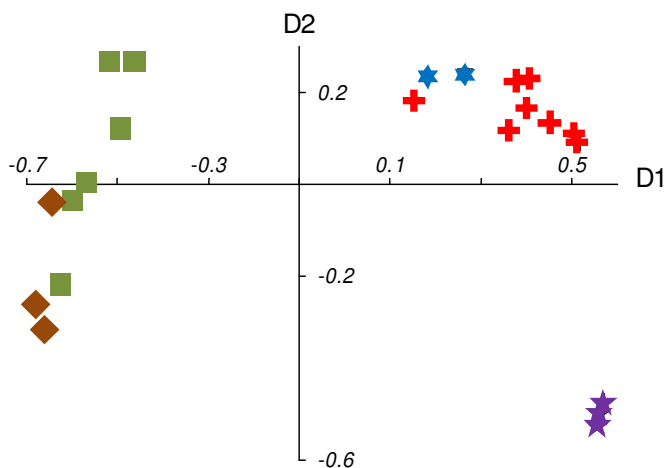
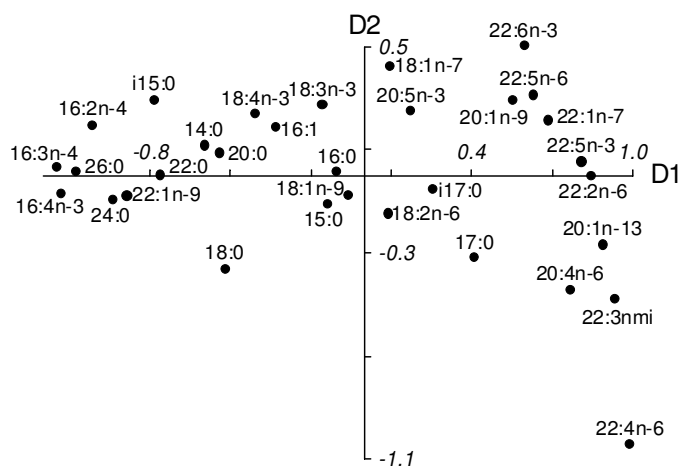


Рисунок 8. Результаты канонического корреспондентного анализа процентного содержания ЖК в моллюсках (фиолетовая пятиконечная звезда – *U. tumidus*, красный крест – *D. polymorpha*, синяя шестиконечная звезда – *D. bugensis*), седиментах (коричневые ромбы) и сестоне (зелёные квадраты) из Каневского водохранилища.



Дополнительно в *Unio* были обнаружены неметилен-разделённые ЖК (например, 22:3 Δ7,13,16), которые являются признаком адаптации животных к придонному образу жизни (Barnathan, 2009) и дефициту физиологически ценных n-3 ПНЖК в пище (Pirini et al., 2007).

В отличие от Каневского водохранилища, в Рыбинском водохранилище один вид моллюсков вытесняет другой вид, что проявляется в росте численности *D. bugensis* и снижении численности *D. polymorpha* на протяжении нескольких лет. Сравнение процентного содержания ЖК в моллюсках показало, что данные виды не различались по содержанию пищевых ЖК. Различия были обнаружены только в содержании С20 и С22 ЖК: *D. bugensis* имела достоверно более высокий процент 20:1n-7, 20:2n-6, 20:5n-3, 22:3 Δ7,13,16, 22:4n-6 и 22:5n-3, а *D. polymorpha* – 20:1n-9, 22:2n-6, 22:5n-6.

В каноническом корреспондентном анализе видна тенденция к разделению двух видов дрейссен по ЖК составу. По оси абсцисс различия между *D. bugensis* и *D. polymorpha* обеспечивались 18:1n-9, 20:1n-7 и 20:2n-6, которые могли быть результатом собственного синтеза моллюсков, а по оси ординат – 18:4n-3 и 18:2n-6 – ЖК маркерами фитопланктона и 22:3 Δ7,13,16, 22:4n-6 – ЖК собственного синтеза моллюсков (Рис. 9). Действительно, содержание 20:1n-7, 20:2n-6, 22:3 Δ7,13,16 и 22:4n-6 было достоверно выше в *D. bugensis*, однако достоверных различий по содержанию 18:1n-9, 18:4n-3 и 18:2n-6 между видами обнаружено не было. Очевидно, причиной полученного результата в данном анализе стало высокое содержание 18:4n-3, 18:2n-6 и 18:1n-9 в отдельных пробах *D. polymorpha*.

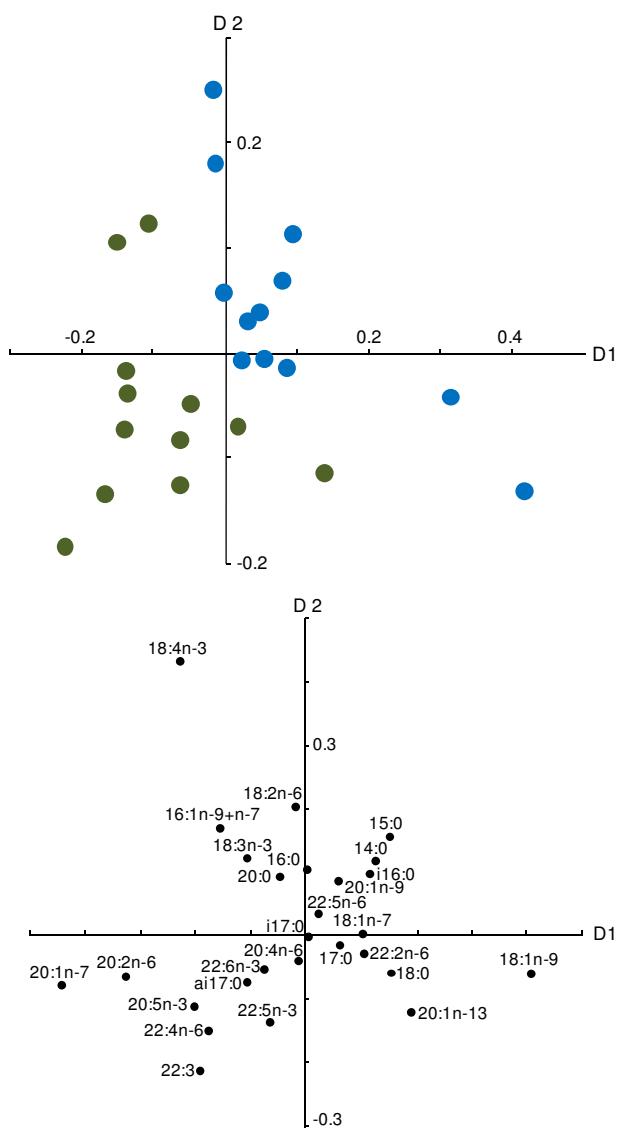


Рисунок 9. Результаты канонического корреспондентного анализа процентного содержания ЖК в моллюсках (синие кружки – *D. polymorpha*, зелёные кружки – *D. bugensis*) из Волжского плёса Рыбинского водохранилища.

Более низкое содержание большинства С20-С22 ПНЖК, включая ЭПК, в тканях *D. polymorpha*, вероятно, свидетельствует о худшем физиологическом состоянии популяции этого вида в экосистеме, по сравнению с *D. bugensis*. Обитая совместно, *D. bugensis* и *D. polymorpha* конкурируют за ресурсы. Очевидно, в этой конкуренции выигрывает популяция *D. bugensis*, что выражается не только в снижении численности популяции *D. polymorpha*, но и в более низком содержании физиологически ценных ПНЖК.

Отдельный раздел Главы 4

посвящён исследованию рациона рыб по ЖК маркерам. Классическими гидробиологическими методами зачастую не удаётся корректно оценить рационы рыб. Пустые желудки, особенно у хищных рыб – довольно распространённое явление. Обнаруженная чешуя или наземные позвоночные в желудках рыб в некий момент времени не несут информации о том, что на самом деле составляет основу рациона данных рыб (Lisi et al., 2014).

Три группы рыб вида *Oncorhynchus nerka* различались по процентному содержанию некоторых ЖК (Рис. 10). Более высокое содержание маркеров диатомей (например, 16:1n-7, 16:2n-4) в смолтах и зоопланктоне из оз. Курильское (данные приведены в Главе 4) указывает на то, что диатомеи являются первым звеном в трофической цепи данной популяции нерки, и их ЖК передаются к рыбам через зоопланктон. Зелёные микроводоросли и цианобактерии (ЖК маркеры – 18:2n-6 и 18:3n-3) вносили небольшой вклад в рацион нерки, особенно нагуливающейся в море. Высокое содержание 20:4n-6, а также других n-6 ПНЖК в жилой нерке и смолтах свидетельствует о

вкладе в их рацион наземной составляющей, например, насекомых. Рыбы, вернувшиеся из моря, были богаты маркерами морского зоопланктона – 20:1n-11, 20:1n-9, 22:1n-11 и 22:1n-9 (Рис. 10). Эти ЖК могут быть использованы для идентификации рыбы, продаваемой в торговых сетях. Пищевая ценность в отношении n-3 ПНЖК анадромной популяции нерки была несколько выше, чем жилой формы (Рис. 10).

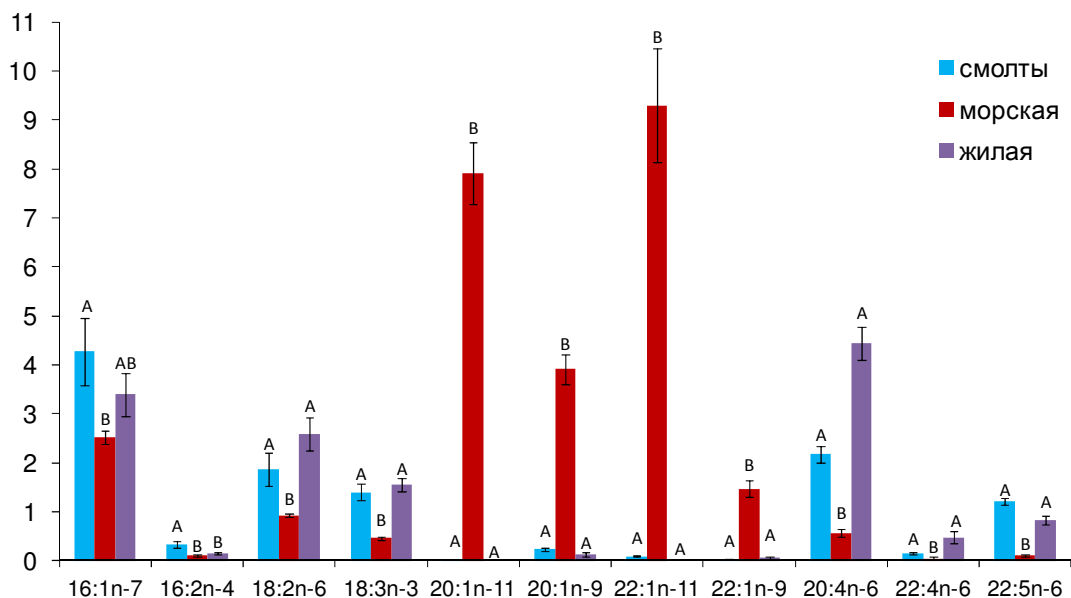


Рисунок 10. Среднее содержание маркерных жирных кислот (% от суммы ЖК, ± стандартная ошибка), абсолютное содержание ЭПК, ДГК и суммы ЖК (мг/г сырой массы) в нерке из оз. Курильское (смолты и морская (анадромная форма), июнь–август 2008 г.) и из оз. Кроноцкое (жилая форма, март, август 2010 г.). Значения, обозначенные одинаковыми буквами, достоверно не различались при $p < 0.05$ – тест Тьюки HSD *post hoc*.

Отдельный раздел **Главы 4** посвящён изучению спектров питания головастиков. С точки зрения трофических взаимодействий из всего разнообразия обитателей пресноводных экосистем головастики амфибий являются одним из наименее изученных звеньев трофических цепей (Petranka, Kennedy, 1999; Altig et al., 2007). В **Главе 4** подробно рассмотрены ЖК профили головастиков, содержимого их кишечника и потенциальных источников пищи. В рацион исследованных видов головастиков входили донные осадки, перифитон, фитопланктон, зоопланктон и насекомые. Обнаружены внутривидовые и межвидовые различия в рационах головастиков (Рис. 11). Спектр питания *Lithobates clamitans* из пруда «В» включал зоопланктон и донные осадки, этот же вид из пруда «F», главным образом, потреблял водных насекомых, фитопланктон и донные осадки, а из пруда «G» – перифитон и донные осадки. Эти внутривидовые различия в спектрах питания, вероятно, объясняются доступностью тех или иных пищевых источников в прудах и их пищевой ценностью.

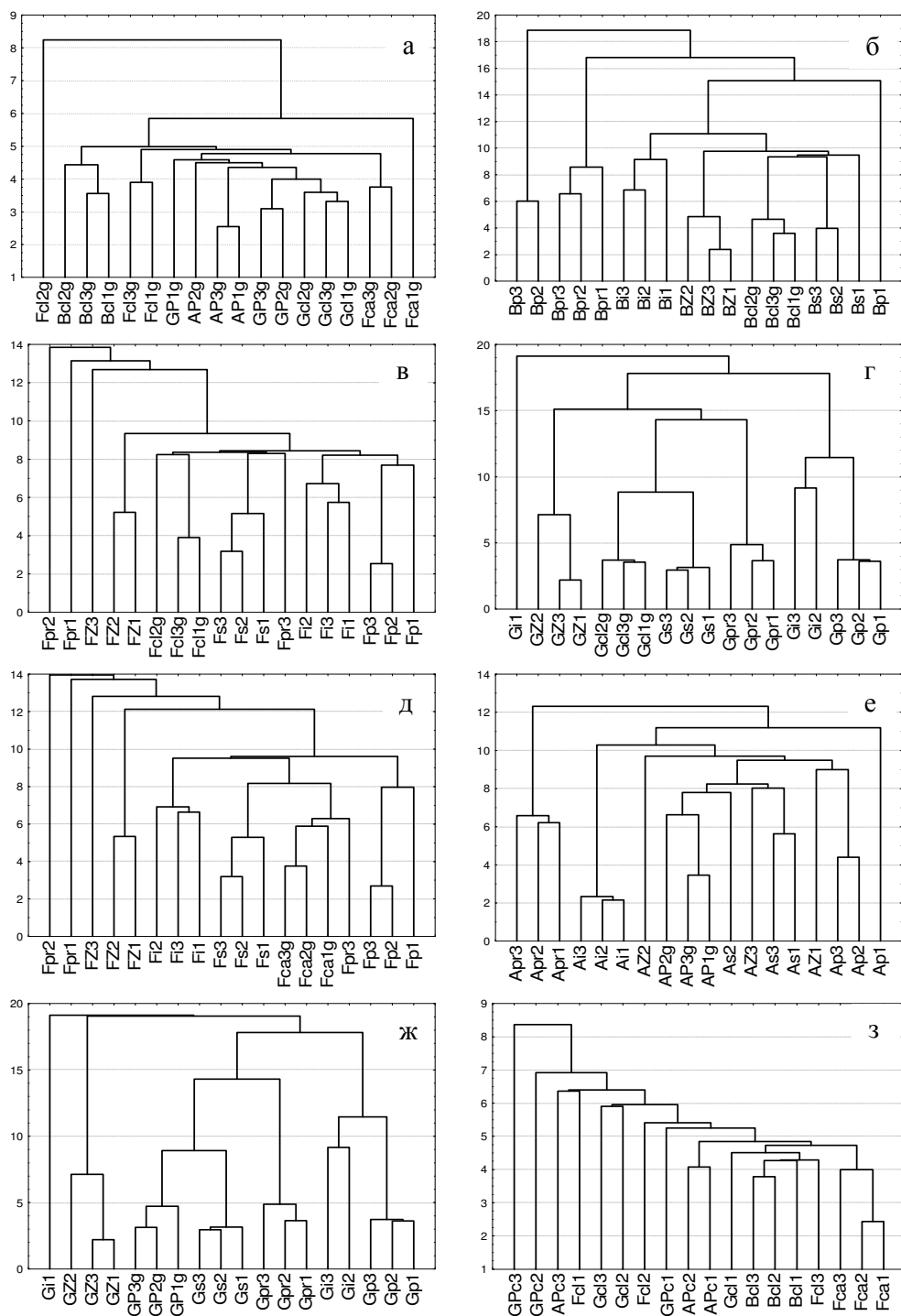


Рисунок 11. Дендрограмма кластерного анализа жирнокислотного состава (% от суммы ЖК) содержимого кишечника головастиков и пищевых источников. Содержимое кишечника всех видов из всех прудов (а), *L. clमितans*, пруд «В» (б), *L. clमितans*, пруд «F» (в), *L. clमितans*, пруд «G» (г), *L. catesbeianus*, пруд «F» (д), *P. crucifer*, пруд «A» (е) *P. crucifer*, пруд «G» (ж) и мышечная ткань всех видов из всех прудов (з). По оси ординат – Евклидово расстояние. В названии проб первая буква (А, В, F, G) – пруд, вторая буква – название пищевого источника (р – фитопланктон, s – донные осадки, z – зоопланктон, i – насекомые, pr – перифитон) или видовое название головастиков (cl – *L. clमितans*, ca – *L. catesbeianus*, P – *P. crucifer*), g – содержимое кишечника, номера повторностей обозначены цифрами (1, 2, 3).

Например, пруды «F» и «G», в которых важными источниками пищи для головастиков служили перифитон и фитопланктон, были в меньшей степени закрыты лесным пологом, чем пруды «A» и «B». При большей освещённости первичная продукция в прудах «F» и «G», очевидно, была выше, чем в остальных прудах, и обеспечивала головастиков питательными веществами. В условиях пониженной освещённости в рационе головастиков появляется пища животного происхождения. Влияние затенения прудов на рацион головастиков было обнаружено и для других видов. Основу питания *Lithobates catesbeianus* и *Pseudacris crucifer* составляли донные осадки, хотя и у этих видов тоже были обнаружены особенности рационов. Дополнительно в рацион *L. catesbeianus* входил фитопланктон, а в рацион *P. crucifer* из пруда «A» – зоопланктон и фитопланктон, и из пруда «G» – перифитон.

Вопреки существующему мнению о том, что головастики потребляют только растительную пищу и донные осадки, большинство исследованных видов потребляли пищу животного происхождения.

Для исследования трофических взаимодействий наряду с ЖК маркерами в последнее время активно используется комбинированный метод – ИАОВ. Считается, что в ряде случаев ИАОВ обладает преимуществами перед анализом процентного содержания маркерных ЖК (Gladyshev et al., 2009; 2012). Интерпретация данных ИАОВ базируется на предположении, что изотопный состав незаменимых ПНЖК в тканях консументов остается точно таким же, как в пище (Budge et al., 2008; Koussoroplis et al., 2010; Vec et al., 2011; Wang et al., 2015). В отдельном разделе **Главы 4** приведён подробный анализ изотопных составов ЖК звеньев трофических цепей в экспериментальных (консумент - *Daphnia galeata*, пища - *Chlorella vulgaris* и *Cryptomonas* sp.) и естественных (бентосная трофическая цепь р. Енисей) условиях. В проведённом эксперименте было обнаружено, что значения $\delta^{13}\text{C}$ незаменимых ЖК (18:2n-6 и 18:3n-3) в дафниях, питающихся хлореллой и криптомонасом, были ниже, чем в водорослях, на 5.02‰, 1.35‰ и 7.04‰, 4.18‰, соответственно (Рис. 12). Некоторые авторы относят 20:5n-3 к незаменимым ЖК для дафний (Vec et al., 2011). Значения изотопных соотношений углерода 20:5n-3 в дафниях, питающихся криптомонасом, были ниже, чем в криптомонасе, на 1.42‰. В целом консументы имели более лёгкий изотопный состав, чем потребляемая ими пища. Полученные результаты противоречат главному принципу, на котором основывалось использование метода изотопных соотношений углерода в жирных кислотах, об идентичности изотопных соотношений незаменимых ЖК в пище и консументах.

Для звеньев бентосной трофической цепи р. Енисей были установлены трофические позиции (Рис. 13). Среди животных наименьшие значения $\delta^{15}\text{N}$ были обнаружены в личинках ручейников, поэтому ручейникам была присвоена наименьшая трофическая позиция ТП=2 – консументы первого порядка. Трофическая позиция гаммарусов составила 2.7, а хариуса – 4.1, что соответствует третьему и четвёртому трофическим уровням (консументы

второго и третьего порядка, соответственно). Кроме перифитона, гаммариды и личинки ручейников в небольших количествах могли потреблять водный мох, что следует из значений $\delta^{13}\text{C}$ (Рис. 13).

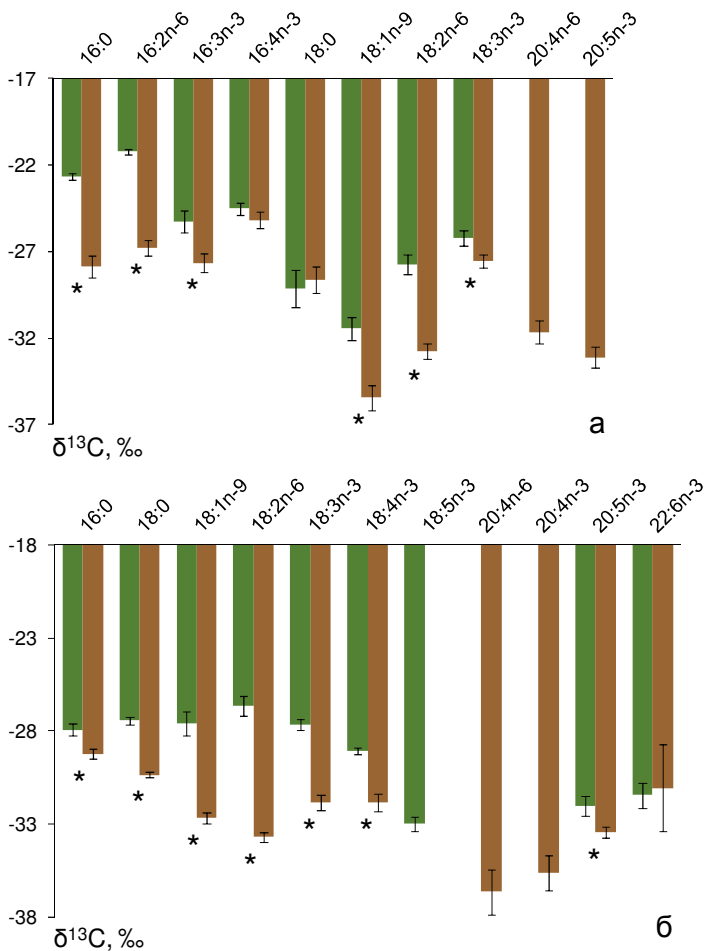


Рисунок 12. Средние значения изотопных соотношений углерода ($\delta^{13}\text{C}$, ‰) отдельных ЖК водорослей (синие столбики) и *Daphnia galeata* (коричневые столбики), питающиеся а) *Chlorella vulgaris*, б) *Cryptomonas* sp. Статистически достоверные различия (t-тест Стьюдента, $p < 0.05$) между животными и водорослями обозначены звёздочкой (*).

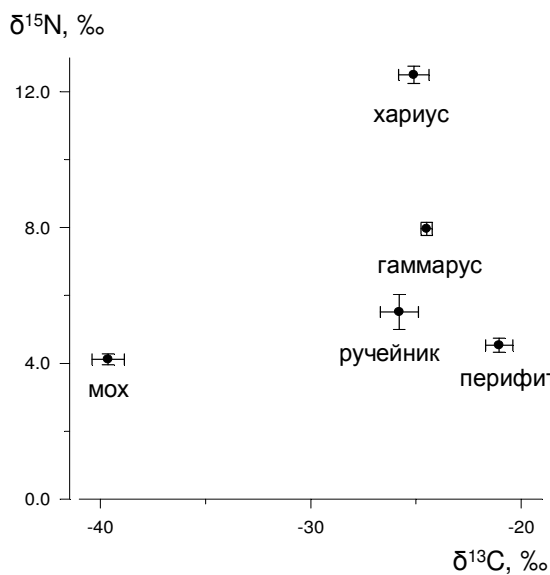


Рисунок 13. Средние значения изотопных соотношений углерода ($\delta^{13}\text{C}$, ‰) и азота ($\delta^{15}\text{N}$, ‰) в перифитоне, водном мхе (*F. antipyretica*) личинках ручейников (*A. crymophila*), гаммарусах (*E. viridis*) и хариусе (*T. arcticus*) из литорали р. Енисей, 2008–2011 гг.

Значения изотопных соотношений углерода основных ЖК перифитона, зообентоса и рыбы приведены на Рис. 14. Для всех исследованных ЖК прослеживается общая тенденция, состоящая в понижении доли тяжёлого изотопа углерода ^{13}C с увеличением трофического уровня организма.

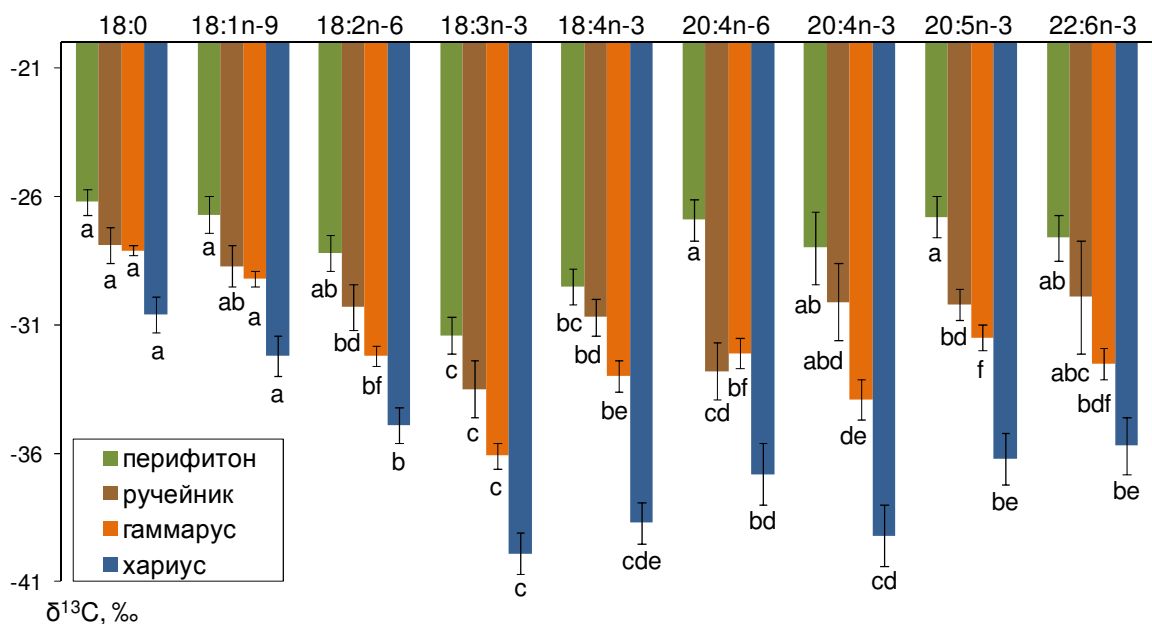


Рисунок 14. Средние значения изотопных соотношений углерода ($\delta^{13}\text{C}$, ‰) ЖК в перифитоне, личинках ручейников, гаммарусах и хариусе из литорали р. Енисей, 2008–2011 гг. Значения ЖК (столбики), обозначенные одинаковыми буквами, достоверно не различались внутри одного вида; столбики, обозначенные одинаковыми символами, достоверно не различались между разными видами при $p < 0.05$ – тест Фишера LSD *post hoc*.

Как и эксперименты с дафниями, полевые исследования демонстрируют трофическое фракционирование изотопов углерода всех исследованных ЖК, включая незаменимые 18:2n-6 и 18:3n-3, между пищевыми источниками и консументами.

Глава 5. Эффективность переноса веществ разной физиологической ценности по трофическим цепям водных экосистем

Со времён пионерской работы Lindeman (1942) принято считать, что эффективность переноса (ЭП) вещества и энергии от предыдущего трофического звена к следующему составляет около 10%. Однако, некоторые вещества могут аккумулироваться в биомассе или, наоборот, расходоваться для получения энергии, а эффективность их переноса может оказаться значительно выше или ниже, соответственно, чем общего органического углерода.

На примере эвтрофного водохранилища Бугач была рассчитана ЭП общего органического углерода, физиологически ценных и незаменимых С18-С22 n-3 ПНЖК, а также С16 ПНЖК, которые не используются животными для построения клеточных мембран между фито- и зоопланктоном. В работе использовали 3 варианта расчёта: 1. ЭП “без сдвига” – использовали данные для фито- и зоопланктона, собранные в одну дату; 2. ЭП “со сдвигом” – использовали данные по фитопланктону, собранные на неделю раньше, чем зоопланктон; 3. ЭП “месяц” – использовали данные фито- и зоопланктона усреднённые за один месяц.

Во всех трёх вариантах расчётов ЭП С18-С22 ПНЖК семейства n-3 в два раза превышала ЭП общего органического углерода (Табл. 6). Напротив, ЭП С16 ПНЖК в вариантах “без сдвига” и “со сдвигом” была достоверно ниже, чем ЭП общего органического углерода. В варианте “месяц” достоверных различий в эффективности переноса С16 ПНЖК и общего органического углерода обнаружено не было (Табл. 6).

Таблица 6. Средние значения эффективности переноса (\pm стандартная ошибка) общего органического углерода (С), С18–С22 ПНЖК семейства n-3 (ПНЖК) и С16 ПНЖК при трёх вариантах расчётов; статистическая достоверность (p) согласно парному тесту Вилкоксона, (n , число пар).

Вариант	С	ПНЖК	С16 ПНЖК	$p_{\text{С-ПНЖК}}$	$p_{\text{С-С16 ПНЖК}}$	n
ЭП “без сдвига”	5.9 \pm 1.2	12.0 \pm 2.6	5.0 \pm 1.5	0.000006	0.001252	36
ЭП “со сдвигом”	6.2 \pm 1.5	12.7 \pm 3.2	5.0 \pm 1.6	0.000004	0.004188	34
ЭП “месяц”	4.8 \pm 1.3	9.3 \pm 2.7	3.3 \pm 0.2	0.007686	0.050613	9

Кроме того, аккумулятивное ЭПК и ДГК было обнаружено в трофической паре перифитон-зообентос в реке Енисей. Соотношение абсолютного содержания ЭПК+ДГК к содержанию общего органического углерода в фитоперифитоне составляло 8.7 \pm 2.2 мг/г, в то время как в разных группах зообентоса (гаммариды, личинки ручейников и хирономид) 25.5 \pm 2.8 мг/г, 29.2 \pm 3.5 мг/г и 31.5 \pm 4.7 мг/г, соответственно.

В трофической паре консументов оз. Чистое, рыба – птица (густера *Blicca bjoerkna* – цапля *Ardea cinerea*) также было обнаружено аккумулятивное ЭПК и ДГК. Абсолютное содержание ЭПК+ДГК в мышечной ткани густеры составило в среднем 0.60 \pm 0.02 мг/г сырой массы, в то время как в мышцах серых цапель этот показатель был в два раза выше, чем в рыбе, и составил 1.19 \pm 0.17 мг/г.

Обнаруженная более высокая эффективность переноса физиологически ценных ПНЖК относительно общего углерода в трофических цепях водных экосистем и, следовательно, аккумулятивное этих ПНЖК в биомассе верхних звеньев трофических цепей объясняет, каким образом верхние звенья получают необходимое количество этих веществ. По закону классической «пирамиды продукции» это было бы невозможно.

Глава 6. Изучение основных пищевых источников n-3 ПНЖК для человека и поиск альтернативных источников

Основным источником физиологически ценных n-3 ПНЖК для человека является рыба, как правило, кулинарно-обработанная (например, Robert, 2006; Adkins, Kelley, 2010). Однако абсолютное содержание ЭПК и ДГК в мышечной ткани разных видов рыб варьирует более чем на два порядка (Gladyshev et al., 2013). Следовательно, для получения суточной нормы ЭПК+ДГК (1 г в сутки), рекомендованной Всемирной организацией здравоохранения, порция одних рыб составит лишь десятки-сотни граммов, других же придётся съесть несколько килограммов.

Одним из популярных методов хранения и кулинарной обработки рыб является консервирование. При сравнении трёх видов консервов – тихоокеанской сайры (*Cololabis saira*), балтийских шпротов (*Sprattus sprattus*) и тихоокеанской сельди (*Clupea harengus*) было обнаружено, что абсолютное содержание ЭПК и ДГК в сайре было самым высоким и достоверно отличалось от содержания этих ЖК в шпротах (Рис. 15). Различий в абсолютном содержании ЭПК+ДГК между сельдью и сайрой, а также между сельдью и шпротами обнаружено не было (Рис. 15).

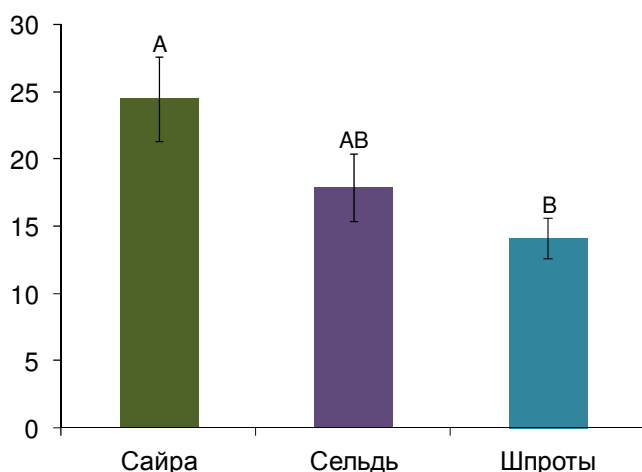


Рисунок 15. Среднее содержание суммы ЭПК и ДГК (мг/г сырой массы, \pm стандартная ошибка) в консервированных сайре (число проб, $n=6$), сельди ($n=9$) и шпротах ($n=9$). Значения (столбики), обозначенные одинаковыми буквами, достоверно не различались при $p < 0.05$ – t-тест Стьюдента.

В целом все три вида консервов имели высокое содержание физиологически ценных ПНЖК. Согласно полученным данным суточная доза ЭПК+ДГК (1 г) содержится в 41 г консервированной сайры, в 55 г консервированной сельди и в 70 г консервированных шпротов.

Более тщательный аудит консервов сайры натуральной и сайры натуральной с добавлением масла (14 производителей) позволил уточнить суточную норму её потребления. Абсолютное содержание суммы ЭПК и ДГК колебалось в пределах 13-38 мг/г сырой массы (Табл. 7). Для получения суточной дозы ЭПК+ДГК порция консервированной сайры должна составлять 26-76 граммов. В целом консервированная сайра всех исследованных производителей оказалась высокоценным источником ЭПК и ДГК.

Производитель	ЭПК+ДГК
А	23.4 ± 3.8
Б	18.0 ± 2.6
В	14.1 ± 1.7
Г	23.9 ± 0.3
Д	26.2 ± 1.6
Е	20.9 ± 2.9
Ж	19.8 ± 1.7
З	37.9 ± 3.8
И	31.0 ± 2.2
К	20.0 ± 2.0
Л	22.1 ± 3.0
М	27.5 ± 1.2
Н	19.5 ± 3.7
О	13.1 ± 1.6

Таблица 7. Среднее содержание суммы ЭПК и ДГК (мг/г сырой массы, ± стандартная ошибка) в консервированной сайре (число консервов от каждого производителя, n=4). Производители обозначены буквами русского алфавита.

Основным источником n-3 ПНЖК (ЭПК и ДГК) для человека, безусловно, является рыба, обитающая в природных экосистемах. Однако мировой вылов рыбы достиг своих пределов и не может быть увеличен без катастрофических последствий (Pauly et al., 2002; FAO, 2016), в то время как население Земли продолжает расти и уже сейчас испытывает дефицит ЭПК и ДГК в пище (Gladyshev et al., 2009; Gregory et al., 2013). В настоящее время идёт активный поиск альтернативных источников этих веществ для человека (Gregory et al., 2013; Napier et al., 2015). Одним из таких источников могут служить дикие (например, олени, птицы) и некоторые сельскохозяйственные животные (Woods, Fearon, 2009; Gregory et al., 2013). Поскольку печень сельскохозяйственных животных широко используется в пищу и является органом, где происходит основной синтез ЖК, она потенциально может являться ценным источником ЭПК и ДГК в питании человека.

В отдельном разделе **Главы 6** проведено сравнение ЖК составов и абсолютного содержания ЭПК и ДГК в сырой и кулинарно-обработанной (печень тушёная в соусе и печёночный паштет) печени коров, свиней и кур. В печени всех животных 20-27% от всех ЖК составляли ПНЖК семейства n-6, среди которых доминировали 18:2n-6 и 20:4n-6. ПНЖК семейства n-3 составляли от 1.8% до 12% от суммы ЖК, с доминированием 20:5n-3, 22:5n-3 и 22:6n-3. Среднее абсолютное содержание ЭПК+ДГК в сырой говяжьей и свиной печени было достоверно ниже, чем в кулинарно-обработанной печени (Рис. 16). В куриной печени не было обнаружено достоверных различий в среднем абсолютном содержании ЭПК+ДГК между сырой и кулинарно-обработанной печенью (Рис. 16). Абсолютное содержание ЭПК+ДГК в печени исследованных животных сопоставимо с таковым некоторых рыб, например, тилапии, нильского окуня, линя, золотистого карася, густеры и других (Gladyshev et al., 2013; 2017).

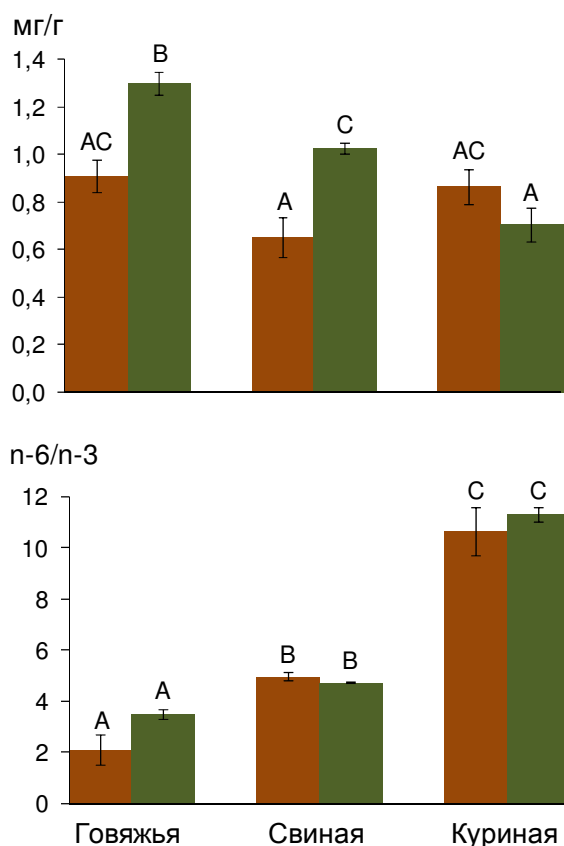


Рисунок 16. Среднее содержание суммы ЭПК и ДГК (мг/г сырой массы продукта, ± стандартная ошибка), и соотношение n-6 и n-3 ПНЖК в сырой (коричневые столбики) и приготовленной (зелёные столбики) печени коров, свиней и кур. Средние, обозначенные одинаковыми буквами, достоверно не различались при $p < 0.05$ – тест Фишера LSD *post hoc*.

Соотношение суммы ПНЖК семейств n-6 и n-3 было самым низким в говяжьей печени и самым высоким в куриной печени (Рис. 16). На основании полученных значений абсолютного содержания ЭПК+ДГК в говяжьей, свиной и куриной печени и литературных данных по

продукции сельскохозяйственных животных и доли печени от массы животных была рассчитана продукция ЭПК+ДГК в печени исследованных животных (Табл. 8).

Среди исследованных животных глобальная продукция свинины была самая большая (Табл. 8). Однако доля печени от массы животных у кур в 1.6 и 2.5 раз выше, чем у свиней и коров, соответственно (Табл. 8). В результате, среди исследованных сельскохозяйственных животных глобальная продукция куриной печени, и, как следствие, глобальная продукция ЭПК+ДГК в куриной печени была самая большая. Суммарная продукция ЭПК+ДГК в печени исследованных сельскохозяйственных животных составила 3.91×10^6 кг/год. Для сравнения вылов рыбы из водоёмов и водотоков поставляет 180×10^6 кг ЭПК+ДГК в год (Gladyshev et al., 2009).

Таблица 8. Глобальная продукция сельскохозяйственных животных и расчёт продукции ЭПК+ДГК печенью исследованных животных.

Параметр	Корова	Свинья	Курица
Продукция (1×10^9 кг/год)	65.6	99.5	88.0
Доля печени (%)	1.1 ^A	1.7 ^A	2.8 ^B
Продукция печени (1×10^9 кг/год)	0.72	1.69	2.46
ЭПК+ДГК (мг/г сырой массы)	0.95	0.65	0.86
Продукция ЭПК+ДГК (1×10^6 кг/год)	0.69	1.1	2.12

A – Акаевский и др., 1984; Б – Зимовина и др., 2011

Очевидно, что количество физиологически ценных ПНЖК поступающих к человеку из печени исследованных сельскохозяйственных животных слишком мало, чтобы быть альтернативой рыбе. Кроме того, соотношение $n-6/n-3$ в свиной и куриной печени было 5:1 и 11:1, соответственно, что значительно превышало рекомендованное Всемирной организацией здравоохранения значение данного соотношения в пище, равное 2:1–3:1 (Davis, Kris-Etherton, 2003).

Расчёт глобальной продукции ЭПК+ДГК в печени коров, свиней и кур показал, что данный продукт не может являться альтернативой рыбе, но может использоваться как дополнительный источник ЭПК и ДГК в питании человека. Кулинарная обработка в целом существенно не влияет на абсолютное содержание физиологически ценных ПНЖК ни в рыбе, ни в печени животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленной работе рассмотрены основные факторы, влияющие на жирнокислотный профиль планктонных и бентосных беспозвоночных. Обнаружено, что среди исследованных факторов наибольшее влияние оказывает филогенетический фактор (таксономическая принадлежность). Важность данного результата заключается в возможности прогнозирования изменений качества пищи зоопланктона и зообентоса для рыб в отношении $n-3$ ПНЖК при изменении таксономического состава сообществ экосистемы, происходящих, например, при эвтрофировании водоёмов, климатических изменениях, вселении чужеродных видов, зарегулировании рек и др. Дополнительно были обнаружены ЖК, которые потенциально могут быть использованы в качестве маркеров некоторых таксонов животных. С помощью ЖК маркеров уточнены спектры питания ряда беспозвоночных и позвоночных животных. Апробация метода изотопного анализа отдельных веществ показала, что данный метод не подходит для изучения трофических взаимодействий в водных экосистемах, поскольку не позволяет однозначно определить источники пищи консументов.

Синтезированные водорослями физиологически ценные ЭПК и ДГК транспортируются по трофическим цепям к верхним звеньям. Рассчитанная в данной работе эффективность переноса углерода и ряда ЖК между звеньями трофических цепей выявила, что эффективность переноса $n-3$ ПНЖК существенно выше эффективности переноса остальных исследованных веществ.

ПНЖК семейства $n-3$ имеют высокое физиологическое значение не только для гидробионтов, но и для наземных животных, включая человека. В представленной работе показана высокая пищевая ценность отдельных видов рыб и рыбных продуктов в питании человека. Помимо этого в работе рассмотрены альтернативные источники $n-3$ ПНЖК, которыми можно дополнить рацион современного человека.

ВЫВОДЫ

1. Применение маркерных жирных кислот позволяет существенно уточнить спектры питания консументов и структуру трофических сетей в водных экосистемах.

2. Обнаруженное фракционирование стабильных изотопов $\delta^{13}\text{C}$ жирных кислот в трофических сетях водных экосистем свидетельствует о бесперспективности использования метода изотопного анализа отдельных веществ для изучения спектров питания консументов в водных экосистемах.

3. Эффективность переноса незаменимых полиненасыщенных жирных кислот по трофическим цепям водных экосистем может более чем в два раза превышать эффективность переноса общего органического углерода.

4. Состав и содержание жирных кислот водных беспозвоночных в первую очередь определяется их филогенией.

5. Внутривидовая вариабельность состава и содержания жирных кислот водных беспозвоночных определяется их спектром питания и другими экологическими факторами: температурой и солёностью воды, а также присутствием рыб в водоёмах.

6. Беспозвоночные гидробионты, а именно Mollusca, Gammaridae, Hirudinea и Planariidae содержат специфические жирные кислоты, которые позволяют определять наличие этих гидробионтов в питании организмов высших трофических уровней.

7. Изменение таксономического состава зоопланктонного сообщества, вызванное увеличением температуры воды, приводит к ухудшению его пищевой ценности для рыб в отношении содержания n-3 ПНЖК.

8. Смена таксономического состава зообентосного сообщества, вызванная инвазией чужеродных видов, потенциально может привести к снижению качества кормовой базы бентоядных рыб в отношении содержания омега-3 ПНЖК.

9. Самыми ценными из исследованных пищевых источников омега-3 полиненасыщенных жирных кислот для человека являются консервированные сайра и сельдь. Рекомендованная суточная доза (1 грамм) суммы эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот содержится в 20-80 граммах данных консервов.

10. Поиск наземных источников эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот, альтернативных рыбе, показал, что наиболее вероятный ресурс, а именно печень сельскохозяйственных животных, может являться лишь дополнительным источником этих физиологически ценных веществ в питании человека. Полученные данные и выполненные расчеты подтвердили значение природных рыбных ресурсов как основного пищевого источника ЭПК и ДГК для человека.

Основные результаты и содержание диссертации отражены в публикациях в журналах, включённых в Перечень ВАК

1. **Makhutova, O.N.** A comparison of the fatty acid composition of *Gammarus lacustris* and its food sources from a freshwater reservoir, Bugach, and the saline Lake Shira in Siberia, Russia / O.N. Makhutova, G.S. Kalachova, M.I. Gladyshev // Aquatic Ecology. – 2003.– V. 37.– P. 159-167.
2. **Махутова, О.Н.** Информативность состава жирных кислот триацилглицеринов и полярных липидов сестона при анализе спектров питания микрозоопланктона небольшого водохранилища Бугач / О.Н. Махутова, Н.Н. Сущик, Г.С. Калачева // Доклады АН. – 2004. – V. 395, №4. – P. 562-565.
3. **Махутова, О.Н.** Сезонная динамика спектра питания *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) в Рыбинском водохранилище / О.Н. Махутова, Е.Г. Пряничникова, М.И. Гладышев, Н.Н. Сущик // Доклады АН. – 2008. – V. 423, №5. – P. 710-713.
4. **Makhutova, O.N.** Fatty acids of sestonic lipid classes as a tool to study nutrition spectra of rotifers and ciliates in a Siberian eutrophic reservoir / O.N. Makhutova, E.B. Khromechek // Journal of Siberian Federal University. Biology. – 2008. – №1. – P. 40-59.
5. **Makhutova, O.N.** Fatty acid content and composition of freshwater planaria *Dendrocoelopsis* sp. (*Planariidae*, *Turbellaria*, *Platyhelminthes*) from the Yenisei River / O.N. Makhutova, N.N. Sushchik, G.S. Kalachova, A.V. Ageev // Journal of Siberian Federal University. Biology. – 2009. – V. 2, № 2. – P. 135-144.
6. **Makhutova, O.N.** Is the fatty acid composition of freshwater zoobenthic invertebrates controlled by phylogenetic or trophic factors? / O.N. Makhutova, N.N. Sushchik, M.I. Gladyshev, A.V. Ageev, E.G. Pryanichnikova, G.S. Kalachova // Lipids. – 2011. – V. 46.– P. 709-721.
7. **Махутова, О.Н.** Сравнение спектров питания дрейссен *Dreissena polymorpha* и *Dreissena bugensis* по биохимическим маркерам / О.Н. Махутова, Е.Г. Пряничникова, И.М. Лебедева // Сибирский экологический журнал. – 2012.– № 4.– P. 619-631.
8. **Makhutova, O.N.** Feeding spectra of bivalve mollusks *Unio* and *Dreissena* from Kanevskoe Reservoir, Ukraine: are they food competitors or not? / O.N. Makhutova, A.A. Protasov, M.I. Gladyshev, A.A. Sylaieva, N.N. Sushchik, I.A. Morozovskaya, G.S. Kalachova // Zoological Studies. – 2013. – V. 52, Номер статьи 56.
9. **Махутова, О.Н.** Сравнение жирнокислотного состава кладоцер и копепод из тёплого и холодных озёр / О.Н. Махутова, М. И. Гладышев, Н.Н. Сущик, О.П. Дубовская, Ж.Ф. Бусева, Е.Б. Фефилова, В.П. Семенченко, Г.С. Калачёва, О.Н. Кононова, М.А. Батурина // Сибирский экологический журнал. – 2014. – № 4. – P. 627-638.

10. **Махутова, О.Н.** Особенности состава жирных кислот *Gammarus lacustris* в рыбных и безрыбных озерах / О.Н. Махутова, Т.А. Шарاپова, Г.С. Калачёва, С.П. Шулепина, М.И. Гладышев // Доклады АН. – 2016. – Т. 466, № 2. – P. 225-227.
11. **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.
12. **Махутова, О.Н.** Состав и содержание жирных кислот доминирующих видов хирономид соленого сибирского озера на разных стадиях развития / О.Н. Махутова, Е.В. Борисова, С.П. Шулепина, А.А. Колмакова, Н.Н. Сущик // Сибирский экологический журнал. – 2017. – №3. – P. 264-275.
13. **Makhutova, O.N.** Intraspecies variability of fatty acid content and composition of a cosmopolitan benthic invertebrate *Gammarus lacustris* / O.N. Makhutova, S.P. Shulepina, T.A. Sharapova, A.A. Kolmakova, E.S. Kravchuk, M.I. Gladyshev // Inland Waters. – 2018. – V. 8, №. 3. – P. 356-367.
14. Sushchik, N.N. Comparison of fatty acid composition in major lipid classes of the dominant benthic invertebrates of the Yenisei river / N.N. Sushchik, M.I. Gladyshev, A.V. Moskvichova, **O.N. Makhutova**, G.S. Kalachova // Compar. Biochem. Physiol. B. – 2003. – V. 134. – P. 111-122.
15. Гладышев, М.И. Запасы и потенциальная продукция незаменимых полиненасыщенных жирных кислот зообентоса Енисея / М.И. Гладышев, Н.Н. Сущик, А.В. Андрианова (Москвичева), **О.Н. Махутова**, Г.С. Калачева, С.П. Шулепина // Доклады АН. – 2004. – Т. 394, № 1. – P. 133-135.
16. Gladyshev, M.I. Influence of sestonic elemental and essential fatty acid contents in a eutrophic reservoir in Siberia on population growth of *Daphnia (longispina* group) / M.I. Gladyshev, N.N. Sushchik, G.S. Kalachova, O.P. Dubovskaya, **O.N. Makhutova** // J. Plankton Res. – 2006. – V. 28, № 10. – P. 907–917.
17. Sushchik, N.N. Comparison of seasonal dynamics of the essential PUFA contents in benthic invertebrates and grayling *Thymallus arcticus* in the Yenisei river / N.N. Sushchik, M.I. Gladyshev, G.S. Kalachova, **O.N. Makhutova**, A.V. Ageev // Compar. Biochem. Physiol. B. – 2006. – V. 145.– P. 278-287.
18. Сущик, Н.Н. Сезонное перемещение пула незаменимой эйкозопентаеновой кислоты по пелагической трофической цепи эвтрофного водохранилища / Н.Н. Сущик, М.И. Гладышев, **О.Н. Махутова**, Е.С. Кравчук, О.П. Дубовская, Г.С. Калачёва // Доклады АН. – 2008. – Т. 422, №6. – P. 848-849.
19. Gladyshev, M.I. Growth rate of *Daphnia* feeding on seston in a Siberian reservoir: the role of essential fatty acid / M.I. Gladyshev, N.N. Sushchik, O.P.

- Dubovskaya, **O.N. Makhutova**, G.S. Kalachova // Aquatic Ecology. – 2008. – V. 42. – P. 617-627.
20. Гладышев, М.И. Эффективность передачи незаменимых полиненасыщенных жирных кислот по трофическим цепям водных экосистем / М.И. Гладышев, Н.Н. Сущик, **О.Н. Махутова**, Г.С. Калачёва, А.А. Колмакова, Е.С. Кравчук, О.П. Дубовская // Доклады АН. – 2009. – Т. 426, №4. – P. 549-551.
21. Gladyshev, M.I. Benefit-risk ratio of food fish intake as the source of essential fatty acids vs. heavy metals: A case study of Siberian grayling from the Yenisei River / M.I. Gladyshev, N.N. Sushchik, O.V. Anishchenko, **O.N. Makhutova**, G.S. Kalachova, I.V. Gribovskaya // Food Chemistry. – 2009. – 115. – P. 545-550.
22. Gladyshev, M.I. Content of essential polyunsaturated fatty acids in three canned fish species / M.I. Gladyshev, N.N. Sushchik, **O.N. Makhutova**, G.S. Kalachova // Int. J. Food Sci. Nutrition. – 2009. – V. 60. – P. 224-230.
23. Гладышев, М.И. Перенос незаменимых полиненасыщенных жирных кислот из водной экосистемы в наземную через трофическую пару рыбы – птицы / М.И. Гладышев, А.В. Крылов, Н.Н. Сущик, М.И. Малин, **О.Н. Махутова**, И.В. Чалова, Г.С. Калачёва // Доклады АН. – 2010. – Т. 431, №4. – P. 563-565.
24. Гладышев, М.И. Различия жирнокислотного состава покатной молоди и вернувшихся из моря взрослых особей нерки / М.И. Гладышев, Е.В. Лепская, Н.Н. Сущик, **О.Н. Махутова**, Г.С. Калачёва // Доклады АН. – 2010. – Т. 430, № 4. – P. 548-551.
25. Gladyshev, M.I. Correlations between fatty acid composition of seston and zooplankton and effects of environmental parameters in a eutrophic Siberian reservoir / M.I. Gladyshev, N.N. Sushchik, **O.N. Makhutova**, O.P. Dubovskaya, E.S. Kravchuk, G.S. Kalachova, E.B. Khromechek // Limnologica. – 2010. – V. 40. – P. 343-357.
26. Tolomeev, A.P. Feeding spectra of *Arctodiaptomus salinus* (Calanoida, Copepoda) using fatty acid trophic markers in seston food in two salt lakes in South Siberia (Khakasia, Russia) / A.P. Tolomeev, N.N. Sushchik, R.D. Gulati, **O.N. Makhutova**, G.S. Kalacheva, T.A. Zotina // Aquatic Ecology. – 2010. – V. 44. – P. 513-530.
27. Whiles, M.R. Fatty acid analyses reveal high degrees of omnivory and dietary plasticity in pond-dwelling tadpoles / M. R. Whiles, M. I. Gladyshev, N.N. Sushchik, **O.N. Makhutova**, G.S. Kalachova, S.D. Peterson, K.J. Regester // Freshwater Biology. – 2010. – V. 55.– P. 1533-1547.
28. Гладышев, М.И. Влияние температуры воды на содержание незаменимых полиненасыщенных жирных кислот в пресноводном зоопланктоне / М.И. Гладышев, В.П. Семенченко, О.П. Дубовская, Е.Б. Фефилова, **О.Н. Махутова**, Ж.Ф. Бусева, Н.Н. Сущик, М.А. Батурина, В.И. Разлуцкий, Е. В. Лепская, Г.С. Калачёва // Доклады АН. – 2011. – 437, № 1. – P. 117-119.

29. Крылов, А.В. Влияние колонии серой цапли (*Ardea cinerea* L.) на планктон малого озера и содержание в нем незаменимых полиненасыщенных жирных кислот / А.В. Крылов, М.И. Гладышев, Д.Б. Косолапов, Н.Н. Сущик, Л.Г. Корнева, **О.Н. Махутова**, Д.В. Кулаков, Г.С. Калачёва, О.П. Дубовская // Сибирский экологический журнал. – 2011. – № 1. – P. 59-68.
30. Gladyshev, M.I. Effect of temperature on contents of essential highly unsaturated fatty acids in freshwater zooplankton / M.I. Gladyshev, V.P. Semenchko, O.P. Dubovskaya, E.B. Fefilova, **O.N. Makhutova**, Z.F. Buseva, N.N. Sushchik, V.I. Razlutskiy, E.V. Lepskaya, M.A. Baturina, G.S. Kalachova, O.N. Kononova // Limnologica. – 2011. – V. 41. – P. 339-347.
31. 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, A.A. Kolmakova, O.P. Dubovskaya // Oecologia. – 2011. – V. 165. – P. 521-531.
32. Gladyshev, M.I. Stable isotope composition of fatty acids in organisms of different trophic levels in the Yenisei River / M.I. Gladyshev, N.N. Sushchik, G.S. Kalachova, **O.N. Makhutova** // PLoS ONE. – 2012. – 7(3). – e34059.
33. Gladyshev, M.I. Comparison of polyunsaturated fatty acids content in filets 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. – V. 77, № 12. – P. C1306-C1310.
34. Гладышев, М.И. Различия жирнокислотного состава кладоцер и копепод холодных и тёплых озёр / М.И. Гладышев, Н.Н. Сущик, **О.Н. Махутова**, О.П. Дубовская, Ж.Ф. Бусева, Е.Б. Фефилова, В.П. Семенченко, Г.С. Калачёва, О.Н. Кононова, М.А. Батурина // Доклады АН. – 2013. – Т. 451, № 2. – P. 221-224.
35. 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 and Other Lipid Mediators. – 2013. – V. 107. – P. 117-126.
36. Гладышев, М.И. Трофическое фракционирование изотопного состава полиненасыщенных жирных кислот в пищевой цепи речной экосистемы / М.И. Гладышев, Н.Н. Сущик, **О.Н. Махутова**, Г.С. Калачёва // Доклады АН. – 2014. – Т. 454, № 2. – С. 225-226.
37. Gladyshev, M.I. Effect of the way of cooking on contents of essential polyunsaturated fatty acids in filets of zander / M.I. Gladyshev, N.N. Sushchik, G.A. Gubanenko, **O.N. Makhutova**, G.S. Kalachova, E.A. Rechkina, K.K. Malyshevskaya // Czech Journal of Food Sciences. – 2014. – V. 32. – P. 226-231.
38. 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, E.S. Kravchuk, L.A. Glushchenko, V.I. Kolmakov, N.N. Sushchik // *Limnology and Oceanography*. – 2015. – V. 60. – P. 1314-1331.
39. Gladyshev, M.I. Livers of terrestrial production animals as a source of long-chain polyunsaturated fatty acids for humans: An alternative to fish? / M.I. Gladyshev, **O.N. Makhutova**, G.A. Gubanenko, E.A. Rechkina, G.S. Kalachova, N.N. Sushchik // *European Journal of Lipid Science and Technology*. – 2015. – V. 117. – P. 1417-1421.
40. Gladyshev, M.I. Fatty acid composition of Cladocera and Copepoda from lakes of contrasting temperature / M.I. Gladyshev, N.N. Sushchik, O.P. Dubovskaya, Z.F. Buseva, **O.N. Makhutova**, E.B. Fefilova, I.Y. Feniova, V.P. Semenchenko, A.A. Kolmakova, G.S. Kalachova // *Freshwater Biology*. – 2015. – V. 60. – P. 373-386.
41. Борисова, Е.В. Поток биомассы и незаменимых полиненасыщенных жирных кислот из воды на сушу при вылете хирономид из горного озера / Е.В. Борисова, **О.Н. Махутова**, М.И. Гладышев, Н.Н. Сущик // *Сибирский экологический журнал*. – 2016. – Т. 23, №4. – С. 543-556.
42. Гладышев, М.И. Сравнение состава жирных кислот у птиц, добывающих пищу в воде и на суше / М.И. Гладышев, О.Н. Попова, **О.Н. Махутова**, Т.Д. Зинченко, Л.В. Головатюк, Ю.А. Юрченко, Г.С. Калачева, А.В. Крылов, Н.Н. Сущик // *Сибирский экологический журнал*. – 2016. – Т. 23, №4. – С. 611-622.
43. Gladyshev, M.I. Stable isotope fractionation of fatty acids of *Daphnia* fed laboratory cultures of microalgae / M.I. Gladyshev, **O.N. Makhutova**, E.S. Kravchuk, O.V. Anishchenko, N.N. Sushchik // *Limnologica*. – 2016. – V. 56. – P. 23-29.
44. Anishchenko, O.V. Benefit-risk ratio of canned pacific saury (*Cololabis saira*) intake: Essential fatty acids vs. heavy metals / O.V. Anishchenko, N.N. Sushchik, **O.N. Makhutova**, G.S. Kalachova, I.V. Gribovskaya, V.N. Morgun, M.I. Gladyshev // *Food and Chemical Toxicology*. – 2017. – V. 101. – P. 8-14.
45. 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, E.A. Borovikova, Y.Y. Dgebuadze // *Lipids*. – 2017. – V. 52. – P. 1033-1044.
46. 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, И.В. Зуев, В.И. Колмаков, Н.Н. Сущик // *Сибирский экологический журнал*. – 2018. – №3. – С. 325-339.

Подписано в печать 01.07.2019. Формат 60×90/16
Бумага офсетная. Усл. печ. л. 2. Тираж 100 экз. Заказ №12
Отпечатано типографией
ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН, ИФ СО РАН
660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50/38
Тел.: 8(391)290-56-18