

УДК 577.115.3

**СОСТАВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ГЛУБОКОВОДНОГО
КИШЕЧНОДЫШАЩЕГО *QUATUORALISIA MALAKHOVI* EZHOVA
ET LUKINYKH, 2022 (HEMICHORDATA: ENTEROPNEUSTA)**

© 2023 г. С. А. Родькина*

Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского (ННЦМБ) ДВО РАН,
Владивосток, 690041 Россия

*e-mail: srodkina@mail.ru

Поступила в редакцию 20.04.2022 г.

После доработки 03.02.2023 г.

Принята к публикации 30.03.2023 г.

Проведено исследование состава жирных кислот липидов *Quatuoralisia malakhovi* Ezhova et Lukinykh, 2022 (Hemichordata, Enteropneusta) — глубоководного кишечногодышащего, собранного на склоне подводного вулкана Пийпа в Беринговом море. Полученные данные указывают, что основными компонентами липидов *Q. malakhovi* являются жирные кислоты бактериального и водорослевого происхождения. При этом источником пищи для исследованного вида является детрит, содержащий большое количество органического материала не только бактерий, но и диатомовых микроводорослей. Эти данные могут найти применение при трофологических исследованиях сообществ, в состав которых входят кишечногодышащие.

Ключевые слова: кишечногодышащие, жирные кислоты, Берингово море

DOI: 10.31857/S0134347523040113, **EDN:** ZQYRWW

Жирные кислоты (ЖК) являются основой большинства липидов во всех живых организмах. Огромное разнообразие ЖК, особенности их биосинтеза и в некоторых случаях уникальность происхождения в определенных растениях, животных и микроорганизмах способствовали развитию ряда направлений исследований, начиная от оценки питания и метаболизма животных и заканчивая изучением трофической структуры экосистем (Харламенко и др., 2008, 2011; Kelly, Scheibling, 2012). До недавнего времени для изучения функционирования пищевых сетей использовали в основном качественные или полуквантитативные методы (Dalsgaard et al., 2003; Budge et al., 2006). Однако последние достижения включают разработку методов для количественной оценки рациона отдельных хищников (Iverson, 2009; Zhanget al., 2020). Необходимым условием применения таких подходов является знание состава ЖК всех важных потенциальных видов-жертв. Однако ЖК даже доминирующих во многих глубоководных сообществах видов изучены недостаточно, а для некоторых групп, например для кишечногодышащих (Hemichordata, Enteropneusta), их состав в настоящее время неизвестен.

Во время 75-го рейса НИС “Академик М.А. Лаврентьев” в Беринговом море (2016 г.) были проведены наблюдения за сообществами

глубоководной мегафауны. Среди доминирующих видов были обнаружены представители Enteropneusta. Один из массовых видов кишечногодышащих встречается в сообществе мягких отложений на глубинах 1830–2130 м на склоне массива Вулканологов, достигая плотности 12 особей на 1 м² — самой высокой из когда-либо зарегистрированных (Rybakova et al., 2020). По-видимому, глубоководные Enteropneusta играют важную роль в круговороте питательных веществ и поверхностной биотурбации в глубоководных экосистемах (Jones et al., 2013). Во время 82-го рейса НИС “Академик М.А. Лаврентьев” (2018 г.) эти животные были собраны, что позволило описать новый вид *Quatuoralisia malakhovi* Ezhova et Lukinykh, 2022 (Ezhova et al., 2022). Кроме того, три экземпляра были зафиксированы для биохимических исследований.

Целью данной работы является изучение ЖК состава общих липидов *Q. malakhovi*, что позволит получить новые сведения по ранее неизученной группе животных. Эти данные могут быть использованы для выявления особенностей питания *Q. malakhovi*, а также различных видов животных, использующих кишечногодышащих как кормовой объект.

Материал и методика. Для исследования были взяты три экземпляра *Quatuoralisia malakhovi*, собранные с помощью телеуправляемого необитае-

Таблица 1. Состав жирных кислот (ЖК) общих липидов *Quatuoralisia malakhovi* (среднее $\pm$ стандартное отклонение, $n = 3$)

ЖК	Относительное содержание, %
14:0	1.08 $\pm$ 0.22
i-15:0	0.31 $\pm$ 0.13
ai-15:0	0.80 $\pm$ 0.17
15:0	1.07 $\pm$ 0.86
i-16:0	0.72 $\pm$ 0.09
16:0	9.73 $\pm$ 2.73
i-17:0	3.12 $\pm$ 1.35
ai-17:0	1.71 $\pm$ 0.39
17:0	2.11 $\pm$ 0.16
i-18:0	1.17 $\pm$ 0.73
18:0	5.89 $\pm$ 0.57
19:0	0.44 $\pm$ 0.13
20:0	0.44 $\pm$ 0.26
16:1n-9	1.36 $\pm$ 0.38
16:1n-7	12.09 $\pm$ 2.28
7-Me-16:1n-10	0.57 $\pm$ 0.30
18:1n-9	2.71 $\pm$ 0.40
18:1n-7	1.94 $\pm$ 0.58
20:1n-11	0.85 $\pm$ 0.47
20:1n-9	0.43 $\pm$ 0.37
20:1n-7	3.34 $\pm$ 1.47
20:1n-5	1.86 $\pm$ 1.02
21:1n-7	0.42 $\pm$ 0.33
22:1n-15	0.70 $\pm$ 0.30
22:1n-9	0.67 $\pm$ 0.87
22:1n-7	1.61 $\pm$ 1.41
$\Delta 5,13-20:2$	0.66 $\pm$ 0.38
$\Delta 7,13-22:2$	0.80 $\pm$ 0.41
$\Delta 7,15-22:2$	7.14 $\pm$ 1.73
$\Delta 7,16-22:2$	1.00 $\pm$ 0.44
$\Delta 7,17-22:2$	0.89 $\pm$ 0.44
20:4n-6	5.63 $\pm$ 1.15
20:5n-3	14.25 $\pm$ 2.65
20:4n-3	1.30 $\pm$ 0.53
20:4n-1	1.38 $\pm$ 0.79
21:4n-7	0.53 $\pm$ 0.21
22:5n-6	0.61 $\pm$ 0.25
22:6n-3	5.78 $\pm$ 1.02
22:4n-6	0.39 $\pm$ 0.22
22:5n-3	2.47 $\pm$ 0.66

мого подводного аппарата (ТНПА) Comanche-18 (SUB-Atlantic, Великобритания) с глубины 1957–1933 м на южном склоне вулкана Пийпа в Беринговом море в ходе комплексной морской экспедиции (82-й рейс НИС “Академик М.А. Лаврентьев”). Подробное описание места сбора и самих животных дано в статье Ежовой с соавторами (Ezhova et al., 2022). Для анализа состава ЖК каждая особь была промыта и заморожена. Материал содержался при температуре -20°C до конца рейса, а после прибытия в лабораторию был зафиксирован смесью хлороформ-метанол (1 : 1 v/v) и хранился 6 мес. при -40°C . Липиды экстрагировали с помощью метода Блая и Дайера (Bligh, Dyer, 1959). Метилловые эфиры ЖК (МЭЖК) получали обработкой липидов 0.5 мл 1% H_2SO_4 в метаноле при 80°C в течение двух часов. Очищали МЭЖК с помощью препаративной тонкослойной хроматографии в бензоле. 4,4-диметилноксазолиновые производные ЖК были получены по методу Светашева (Svetashev, 2011). МЭЖК анализировали на хроматографе GC-2010 (Shimadzu, Япония) с использованием капиллярной кварцевой колонки (30 м $\times$ 0.25 мм) с фазой Supelcowax 10 в изотермическом режиме при 210°C .

Строение жирных кислот устанавливали по данным газо-жидкостной масс-спектрометрии их метиловых эфиров и производных 4,4-диметилноксазолина. Масс-спектрометрию проводили на приборе GCMS QP5050A (Shimadzu, Япония), используя колонку Rtx-5MS в градиенте температур от 180 до 290°C со скоростью $2^{\circ}\text{C}/\text{мин}$. Все спектры были получены методом электронного удара при 70 эВ. Спектры сравнивали с библиотекой NIST 21. Данные по составу ЖК представлены как процент от их общего содержания (табл. 1). Относительные погрешности при определении процентного содержания ЖК в коммерческом стандарте (Supelco 18920, Sigma-Aldrich) не превышали 0.05 ($n = 5$).

Результаты и обсуждение. Состав ЖК кишечного содержимого *Quatuoralisia malakhovi* представлен в табл. 1. В общих липидах доминируют полиненасыщенные ЖК (ПНЖК). Суммарное процентное содержание насыщенных (НЖК) и мононенасыщенных (МНЖК) жирных кислот сходно и составляет около 30% для каждой группы. Главными ЖК (более 5%) являются 16:0, 18:0, 16:1n-7, 20:4n-6, 20:5n-3, $\Delta 7,15-22:2$ и 22:6n-3. На их долю приходится 50% от всех обнаруженных ЖК. Суммарное содержание ЖК с нечетным числом атомов углерода ($\Sigma \text{C}15, \text{C}17$) достигает 9%. Эти ЖК широко используют как показатель вклада бактерий в питание животных (Dalsgaard et al., 2003; Kelly, Scheibling, 2012). Относительное содержание $\Sigma \text{C}15, \text{C}17$ довольно высокое, что позволяет предположить их бактериальное происхождение.

Среди МНЖК доминируют ЖК n-7-серии. Суммарное содержание этих ЖК достигает 20%, при этом 12% за счет 16:1n-7. Пальмитолеиновая кислота (16:1n-7) широко распространена в липидах морских организмов. Однако высокое содержание этой ЖК характерно для бактерий и диатомовых микроводорослей. Как следствие, животные, питающиеся бактериями и диатомовыми, также показывают повышенное содержание 16:1n-7 (Dalsgaard et al., 2003; Kelly, Scheibling, 2012). Мононенасыщенные C20, C22 n-7-серии составляют 5% от всех ЖК и, вероятно, синтезируются *Q. malakhovi* de novo путем элонгации 16:1n-7. Интересно отметить, что 20:1n-13 не обнаружена в липидах *Q. malakhovi*. Эту кислоту часто используют как маркер детритофагов (Харламенко и др., 2011; Mansour et al., 2005). Возможно, при высокой доступности короткоцепочечных предшественников (16:1n-7, 18:1n-7) более рационально синтезировать МНЖК C20, C22 n-7-серии путем элонгации (Cook, 1996). Процессы десатурации 20:0 до 20:1n-13 при этом, очевидно, более энергозатратны, так как требуют специфической десатуразы или специфических короткоцепочечных предшественников (Gunstone, 1996).

Неметиленразделенные диеновые ЖК (НМРЖК) составляют 10% от всех ЖК в общих липидах *Q. malakhovi*. Всего было обнаружено пять таких ЖК: $\Delta 5,13-20:2$; $\Delta 7,13-22:2$; $\Delta 7,15-22:2$; $\Delta 7,16-22:2$; $\Delta 7,17-22:2$. Главной из них является $\Delta 7,15-22:2$ (7%). Эта кислота часто встречается в следовых количествах у многих морских животных, но более характерна для моллюсков (Barnathan, 2009). Было продемонстрировано, что моллюски способны сами синтезировать НМРЖК (Zhukova, 1991). Поэтому их часто используют как пищевые маркеры для морских позвоночных, указывающие на питание моллюсками (Budge et al., 2007). Однако следует отметить, что $\Delta 7,15-22:2$ относится к кислотам n-7-серии и, вероятно, синтезируется *Q. malakhovi* из МНЖК C20, C22 n-7-серии. Высокое содержание НМРЖК часто рассматривают как компенсаторное для животных с низким содержанием ПНЖК (Barnathan, 2009). Так, например, у симбиотических моллюсков, получающих питание только за счет симбионтов, обычные ПНЖК n-3 и n-6-серии отсутствуют, но появляются неметиленразделенные (Kharlamenko et al., 2019). Однако в случае с *Q. malakhovi* отмечено высокое содержание ПНЖК.

Главной ЖК в липидах *Q. malakhovi* является эйкозапентаеновая 20:5n-3. Содержание 20:5n-3 сравнимо с таковым у других беспозвоночных из Берингова моря (Oxtoby et al., 2016). Эта кислота считается маркером диатомовых микроводорослей — главных продуцентов в умеренных широтах (Dalsgaard et al., 2003; Jonasdottir, 2019). Животные, питающиеся преимущественно диатомеями, обычно показывают высокое содержание 20:5n-3

и 16:1n-7 (Dalsgaard et al., 2003; Kelly, Scheibling, 2012).

Таким образом, главный вклад в питание *Q. malakhovi* вносят диатомовые водоросли. Это подтверждается также данными по анализу содержимого пищеварительного тракта *Q. malakhovi* (Ezhova et al., 2022). В целом ПНЖК n-3-серии составляют 24% от всех ЖК в липидах, с высокой концентрацией докозагексаеновой 22:6n-3 кислоты. Источником 22:6n-3 могли быть динофлагеллаты (Dalsgaard et al., 2003; Jonasdottir, 2019). Доля другой важной группы ПНЖК n-6-серии составляет около 7%, в основном за счет арахидоновой кислоты 20:4n-6. Кроме того, в составе липидов *Q. malakhovi* присутствуют две необычные ПНЖК: 20:4n-1 и 21:4n-7, прежде обнаруженные у фораминифер (Kharlamenko, 2018). Ранее было показано, что голотурии с высоким содержанием 20:4n-6 используют в пищу органическое вещество, синтезированное фораминиферами (Харламенко и др., 2015). Арахидоновая кислота и эти две необычные кислоты, вероятно, могут быть получены с пищей при питании фораминиферами или другими компонентами бентосной микробной пелли (Харламенко и др., 2011; Berge, Barnathan, 2005; Kharlamenko, 2018).

В заключение следует сказать, что *Q. malakhovi* с точки зрения состава жирных кислот представляет собой довольно качественный кормовой объект для других животных, богатый незаменимыми ПНЖК (Parrish, 2009). Полученные данные позволяют полагать, что основными источниками пищи для исследованного вида являются бактерии и диатомовые. Богатая первичная продукция, созданная за счет фотосинтеза в верхних слоях Берингова моря (Springer et al., 1996), обеспечивает достаточно пищи бентосным организмам даже на самых больших глубинах.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Харламенко В.И., Кияшко С.И., Родькина С.А., Имбс А.Б. Идентификация источников пищи морских беспозвоночных из сообщества сублиторальных песков по составу жирных кислот и стабильных изотопов // Биол. моря. 2008. Т. 34. № 2. С. 115–123.
- Харламенко В.И., Кияшко С.И., Родькина С.А., Светашев В.И. Состав жирных кислот и стабильных изотопов у детритофага *Acilaisignis* (Gould, 1861) (Bivalvia:

- Nuculidae): поиск маркеров микробной пищевой сети // Биол. моря. 2011. Т. 37. № 3. С. 191–198.
- Харламенко В.И., Степанов В.Г., Борисов Е.Э. и др. Состав жирных кислот и питание глубоководных голотурий Охотского моря // Биол. моря. 2015. Т. 41. № 6. С. 418–424.
- Barnathan G. Non-methylene-interrupted fatty acids from marine invertebrates: occurrence, characterization and biological properties // Biochimie. 2009. V. 91. P. 671–678.
- Berge J.P., Barnathan G. Fatty acids from lipids of marine organisms: molecular biodiversity, roles as biomarkers, biologically active compounds, and economical aspects // Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 2005. V. 96. P. 49–125.
- Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification // Can. J. Biochem. Physiol. 1959. V. 37. № 8. P. 911–917.
- Budge S.M., Iverson S.J., Koopman H.N. Studying trophic ecology in marine ecosystems using fatty acids: A primer on analysis and interpretation // Mar. Mam. Sci. 2006. V. 22. P. 759–801.
- Budge S.M., Springer A.M., Iverson S.J., Sheffield G. Fatty acid biomarkers reveal niche separation in an Arctic benthic food web // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2007. V. 336. P. 305–309.
- Cook H.W. Fatty acid desaturation and chain elongation in eukaryotes // Biochemistry of lipids and membranes. Amsterdam: Elsevier. 1996. P. 129–152.
- Dalsgaard J., St. John M., Kattner G. et al. Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment // Adv. Mar. Biol. London: Academic Press. 2003. V. 46. P. 225–340.
- Ezhova O.V., Lukinykh A.I., Galkin S.V. et al. Deep-sea acorn worms (Enteropneusta) from the Bering Sea with the description of a new genus and a new species of Torquaratoridae dominating soft-bottom communities // Deep-Sea Res. Part II. 2022. V. 195. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2021.105014>
- Gunstone F.D. Fatty acid and lipid chemistry. Dordrecht: Springer Science + Business Media 1996. 252 p.
- Iverson S.J. Tracing aquatic food webs using fatty acids: From qualitative indicators to quantitative determination // Lipids in aquatic ecosystems. 2nd ed. New York: Springer. 2009. V. 12. P. 281–308.
- Jonasdottir S.H. Fatty acid profiles and production in marine phytoplankton // Mar. Drugs. 2019. V. 17. P. 151. <https://doi.org/10.3390/md17030151>
- Jones D.O.B., Alt C.H.S., Priede I.G. et al. Deep-sea surface-dwelling enteropneusts from the Mid-Atlantic Ridge: Their ecology, distribution and mode of life // Deep-Sea Res. Part II. 2013. V. 98. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2013.05.009>
- Kelly J.R., Scheibling R.E. Fatty acids as dietary tracers in benthic food webs // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2012. V. 446. P. 1–22.
- Kharlamenko V.I. Abyssal foraminifera as the main source of rare and new polyunsaturated fatty acids in deep-sea ecosystems // Deep-Sea Res. Part II. 2018. V. 154. P. 358–364.
- Kharlamenko V.I., Kiyashko S.I., Sharina S.N. et al. An ecological study of two species of chemosymbiotrophic bivalve molluscs (Bivalvia: Vesicomidae: Pliocardiinae) from the Deryugin Basin of the Sea of Okhotsk using analyses of the stable isotope ratios and fatty acid compositions // Deep-Sea Res. Part I. 2019. V. 150. Art. ID 103058. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2019.06.004>
- Mansour M.P., Holdsworth D.G., Forbes S.E. et al. High contents of 24:6(n-3) and 20:1 (n-13) fatty acids in the brittle star *Amphiura elandiformis* from Tasmanian coastal sediments // Biochem. Syst. Ecol. 2005. V. 33. № 7. P. 659–674.
- Oxtoby L.E., Budge S.M., Iken K. et al. Feeding ecologies of key bivalve and polychaete species in the Bering Sea as elucidated by fatty acid and compound-specific stable isotope analyses // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2016. V. 557. P. 161–175. <https://doi.org/10.3354/meps11863>
- Parrish C.C. Essential fatty acids in aquatic food webs // Lipids in aquatic ecosystems: 2nd ed. New York: Springer. 2009. V. 12. P. 309–326.
- Rybakova E., Galkin S., Gebruk A. et al. Vertical distribution of megafauna on the Bering Sea slope based on ROV survey // PeerJ. 2020. V. 8. Art. ID e8628. <https://doi.org/10.7717/peerj.8628>
- Springer A.M., McRoy C.P., Flint M.V. The Bering Sea Green Belt: shelf-edge processes and ecosystem production // Fish. Oceanogr. 1996. V. 5. P. 205–223.
- Svetashev V.I. Mild method for preparation of 4,4-dimethylloxazoline derivatives of polyunsaturated fatty acids for GC-MS // Lipids. 2011. V. 46. № 5. P. 463–467.
- Zhang J.B., Ren C.L., Zhang H. et al. Review of estimating trophic relationships by quantitative fatty acid signature analysis // J. Mar. Sci. Eng. 2020. V. 8. Art. ID 1030. <https://doi.org/10.3390/jmse8121030>
- Zhukova N.V. The pathway of the biosynthesis of non-methylene-interrupted dienoic fatty acids in mollusks // Comp. Biochem. Physiol. Part B. 1991. V. 100. P. 801–804.

The Fatty Acid Composition of a Deep-Sea Acorn Worm *Quatuoralisia malakhovi* Ezhova et Lukinykh, 2022 (Hemichordata: Enteropneusta)

S. A. Rodkina

Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch,
Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690041 Russia

This study investigates the fatty acid (FA) composition of total lipids in *Quatuoralisia malakhovi* Ezhova et Lukinykh, 2022 (Hemichordata: Enteropneusta), a new species of deep-sea acorn worm that was collected on the slope of the Piip Volcano in the Bering Sea. The data obtained indicate that the main components of lipids in *Q. malakhovi* are fatty acids of bacterial and diatom origin. The food source of the studied species is detritus containing large amounts of not only bacteria, but also diatoms. The results could be used in trophic studies of communities that include Enteropneusta.

Keywords: Enteropneusta, fatty acids, Bering Sea