

СОСТАВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И ПИТАНИЕ ГЛУБОКОВОДНЫХ ГОЛОТУРИЙ ОХОТСКОГО МОРЯ¹© 2015 г. В. И. Харламенко¹, В. Г. Степанов², Е. Э. Борисовец^{3,4},
С. И. Кияшко^{1,3}, В. И. Светашев¹¹Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток 690041;²Камчатский филиал Тихоокеанского института географии ДВО РАН, Петропавловск-Камчатский 683000;³Дальневосточный федеральный университет, Владивосток 690091;⁴Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр, Владивосток 690091
e-mail: kharlvi@mail.ru

Статья принята к печати 04.06.2015 г.

Представлены результаты сравнительного изучения состава жирных кислот (ЖК) у восьми видов голотурий, собранных в Охотском море в районе островов Курильской гряды на глубине 90–560 м. Показано, что межвидовые различия в составе ЖК голотурий согласуются с данными анализа изотопного состава ($\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$), с особенностями строения щупалец и образа жизни как показателями используемых голотуриями трофических ресурсов. По результатам кластерного анализа концентраций основных ЖК выделены три группы голотурий. Первую группу составили дендрохиротиды-сесотофаги *Eupentacta pusilla* и *Pseudocnus fallax* с высоким содержанием ЖК, являющихся маркерами диатомовых микроводорослей, и значениями $\delta^{15}\text{N}$, характерными для потребителей взвешенного органического вещества. Вторую группу составили дендрохиротиды *Psolus chitonoides* и *Psolidium* sp. с более низким содержанием 20:5(n-3), с более высокими концентрациями 20:4(n-6) и 22:6(n-3), а также с высокими значениями $\delta^{15}\text{N}$, характерными для глубоководных собирающих детритофагов. В третью группу вошли грунтоеды и собирающие детритофаги *Chiridota* sp., *Molpadia orientalis*, *Pseudostichopus mollis* и *Synallactes nozawai* с очень высокими концентрациями 20:4(n-6) и 21:4(n-7) и самыми высокими значениями $\delta^{15}\text{N}$, что указывает на питание многократно переработанным органическим веществом.

Ключевые слова: голотурии, Охотское море, жирные кислоты, стабильные изотопы, трофические взаимоотношения.

Fatty acid composition and nutrition of deep-sea holothurians from the Sea of Okhotsk. V. I. Kharlamenko¹, V. G. Stepanov², E. E. Borisovets^{3,4}, S. I. Kiyashko^{1,3}, V. I. Svetashev¹ (¹A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041; ²Kamchatka Branch of Pacific Geographical Institute, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Petropavlovsk-Kamchatsky 683000; ³Far Eastern Federal University, Vladivostok 690950; ⁴Pacific Fisheries Research Centre, Vladivostok 690950)

Results of a comparative study of the fatty acid composition in eight species of sea cucumbers collected in the Sea of Okhotsk in the area of the Kuril Islands (depths of 90–560 m) are presented. It is shown that interspecific differences in the fatty acid compositions of the sea cucumbers were consistent with the isotopic composition ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) and the structural features of the tentacles and the lifestyle of holothurians, as indicators of trophic resources used by these holothurians. According to results of the cluster analysis, the holothurians were divided into three groups. The first group included suspension-feeding dendrochirotes *Eupentacta pusilla* and *Pseudocnus fallax* with a high content of fatty acid 20:5(n-3), a marker of diatoms, and with the values of $\delta^{15}\text{N}$, typical of consumers of suspended organic matter. The second group consisted of dendrochirotes *Psolus chitonoides* and *Psolidium* sp. with a much lower content of 20:5(n-3) and higher contents of 20:4 (n-6) and 22:6(n-3), as well as high values of $\delta^{15}\text{N}$, typical of surface deposit-feeders. The third group consisted of surface and subsurface deposit-feeders, *Chiridota* sp., *Molpadia orientalis*, *Pseudostichopus mollis*, and *Synallactes nozawai*. Typical of the third group were very high contents of 20:4(n-6) and 21:4(n-7) and the highest values of $\delta^{15}\text{N}$, indicating feeding on repeatedly recycled organic matter. (Biologiya Morya, 2015, vol. 41, no. 6. pp. 418–424).

Keywords: holothurians, the Sea of Okhotsk, fatty acids, stable isotopes, trophic relationships.

Интерес к изучению голотурий связан с тем, что они являются важным источником биологически активных веществ (Стоник, 2005; Rybin et al., 2007), а также с ключевой ролью этих беспозвоночных в пищевых сетях глубоководных экосистем (Billett, 1991) и многих мелководных сообществ (Левин, 1999). Несмотря на значительные успехи в изучении питания голотурий (Massin, 1982; Billett, 1991; Roberts et al., 2000), получить инфор-

мацию об источниках пищи многих видов, в частности глубоководных, крайне сложно (Massin, 1982). В последние годы данные по составу жирных кислот морских организмов все чаще используются для анализа трофических связей (Kharlamenko et al., 1995; Dalsgaard et al., 2003; Kelly, Scheibling, 2012), так как многие жирные кислоты являются незаменимыми и ассимилируются животными из пищи. Применительно к голотуриям по-

¹ Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 14-50-00034).

добные исследования редки и касаются преимущественно абиссальных видов (Ginger et al., 2000; Bühring et al., 2002; Hudson et al., 2004; Neto et al., 2006).

Цель данной работы – выявить различия в составе жирных кислот у глубоководных голотурий в связи с особенностями их питания. Для этого был проведен сравнительный анализ жирных кислот представителей четырех отрядов (Dendrochirotida, Apodida, Molpadida, Aspidochirotida), различающихся образом жизни и строением щупалец, определяющими характер питания, а также выполнен анализ соотношений стабильных изотопов в тканях, характеризующих источники пищи голотурий. Для большей корректности сравнительного анализа все виды были собраны в одной экосистеме ограниченного района Охотского моря у островов Курильской гряды.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Голотурии были выловлены в июле 2011 г. во время рейса НИС "Академик Опарин" в Охотском море вблизи Курильских островов с помощью драги на глубине 90–560 м (табл. 1). Для анализа использовали стенку тела голотурий. Липиды экстрагировали с помощью метода Блая и Дайера (Bligh, Dyer, 1959). Метилловые эфиры жирных кислот (МЭЖК) получали из общего липидного экстракта по методу Карро и Дубака (Carreau, Dubacq, 1978) и очищали с помощью препаративной тонкослойной хроматографии в бензоле. Диметилкоксазолиновые производные жирных кислот были синтезированы по методу Светашева (Svetashev, 2011). МЭЖК, диметилкоксазолиновые производные жирных кислот и соотношения стабильных изотопов углерода и азота определяли с помощью ранее описанных методов (Kiyashko et al., 2014). Образцы для изотопного анализа подготавливали также в соответствии с методами, описанными ранее (Kiyashko et al., 2014). Статистический анализ выполнен с использованием пакетов статистических программ Statistica 8 и Primer 6. В многомерном анализе использованы главные жирные кислоты с концентрацией более 5% хотя бы в одном образце (табл. 2). Кластерный анализ сходства голотурий по составу жирных кислот и анализ методом главных компонент выполнены на основании индекса сходства Брея–Кертиса;

Таблица 1. Видовой состав и соотношения стабильных изотопов углерода и азота (среднее \pm стандартное отклонение) исследованных голотурий

Вид	Глубина, м	n	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$
Dendrochirotida				
<i>Eupentacta pusilla</i>	90	3	7.6 \pm 0.7	–22.5 \pm 0.4
<i>Pseudocnus fallax</i>	142–150	3	7.6 \pm 0.5	–25.1 \pm 0.4
<i>Psolus chitonoides</i>	350–435	3	14.1 \pm 0.5	–19.5 \pm 0.3
<i>Psolidium</i> sp.	450	3	13.1 \pm 0.5	–16.3 \pm 0.5
Apodida				
<i>Chiridota</i> sp.	242–490	3	13.7 \pm 1.2	–18.4 \pm 0.1
<i>Chiridota</i> sp.	150–350	3	14.7 \pm 0.2	–17.4 \pm 0.3
Molpadida				
<i>Molpadia orientalis</i>	150–180	3	14.6 \pm 0.7	–19.7 \pm 0.3
Aspidochirotida				
<i>Pseudostichopus mollis</i>	182–186	2	16.1 \pm 0.1	–17.4 \pm 0.1
<i>P. mollis</i>	557–560	2	16.9 \pm 0.2	–17.9 \pm 0.1
<i>Synallactes nozawai</i>	113–134	3	12.0 \pm 0.1	–20.6 \pm 0.1

предварительно данные были лог-трансформированы. Оценку вклада жирных кислот в сходство и различия между группами определяли с помощью программы SIMPER.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) преобладали в липидах всех видов голотурий (табл. 2), их суммарное содержание варьировало от 39.0% у *Psolidium* sp. до 64.8% у *Synallactes nozawai*. Главной жирной кислотой у аподид, мольпадид и аспидохиротид была 20:4(n-6), а у дендрохиротид 20:5(n-3), хотя в липидах *Psolus chitonoides* содержание этих кислот было примерно равновысоким. Особенности состава ПЖНК исследованных голотурий – заметное количество редкой жирной кислоты 21:4(n-7), отмеченное у шести видов (табл. 2), а также присутствие в липидах двух видов (*Eupentacta pusilla* и *Pseudocnus fallax*) второго изомера 20:5(n-3) (табл. 2). Содержание мононенасыщенных жирных кислот (МНЖК) было ниже, чем ПНЖК, и изменялось от 20.2 до 33.3%. Самое низкое суммарное содержание МНЖК отмечено у *Synallactes nozawai*, а самое высокое – у *Molpadia orientalis*. Главными МНЖК были 23:1(n-9), 16:1(n-7) и 18:1(n-7). Общее содержание насыщенных жирных кислот (НЖК) в липидах исследованных видов варьировало от 10.3 до 23.8% с преобладанием кислот 16:0 и 18:0. Суммарное содержание короткоцепочечных НЖК с разветвленной цепью и/или нечетным числом атомов углерода (определяемых как бактериальные жирные кислоты) составляло от 2.5 до 5.2%. Наиболее высоким было содержание жирной кислоты anteiso-15:0 в липидах *P. fallax* – 4.1%.

По результатам кластерного анализа концентраций основных жирных кислот были выделены три группы голотурий на уровне сходства более 75% (рис. 1). Группу I составили дендрохиротиды *E. pusilla* и *P. fallax*, собранные на глубинах до 150 м. Все образцы этой группы характеризовались наиболее высоким содержанием кислот 20:5(n-3), 16:1(n-7) и 16:4(n-1), которые обеспечили 84% сходства в группе (табл. 3). Кроме того, во всех образцах группы I обнаружен второй изомер 20:5(n-3), концентрация которого варьировала от 1 до 10%. Отношение 16:1(n-7)/16:0 у этих голотурий значительно превышало 1, а отношение 20:4(n-6)/20:5(n-3) было < 0.1 (табл. 2).

В группу II объединились дендрохиротиды *P. chitonoides* и *Psolidium* sp., собранные на глубине 350–450 м. Жирные кислоты 20:5(n-3), 20:4(n-6) и 22:6(n-3) определили 76.3% сходства в этой группе. Голотурии группы II отличались от образцов группы I в основном низкими концентрациями жирных кислот 20:5(n-3) и 16:1(n-7), высоким содержанием 20:4(n-6) и отсутствием кислоты 16:4(n-1) (табл. 3).

В группу III вошли все представители аподид, мольпадид и аспидохиротид независимо от глубины обитания исследованных особей. Близкие значения концентраций жирных кислот 20:4(n-6), 20:5(n-3) и 22:6(n-3) обеспечили 76.8% сходства в группе III. Разделение этой

Таблица 2. Состав жирных кислот общих липидов голотурий (среднее \pm стандартное отклонение, для *Molpadia orientalis* среднее \pm размах вариации)

Жирная кислота	<i>Eupentacta pusilla</i> , n=3	<i>Pseudocnus fallax</i> , n=3	<i>Psolus chitonoides</i> , n=3	<i>Psolidium</i> sp., n=3	<i>Chiridota</i> sp., n=4	<i>Molpadia orientalis</i> , n=2	<i>Pseudostichopus mollis</i> , n=4	<i>Synallactes nozawai</i> , n=3
14:0	3.9 \pm 1.4	2.8 \pm 1.1	1.6 \pm 1.0	5.8 \pm 1.1	0.9 \pm 0.5	0.9 \pm 0.1	0.4 \pm 0.2	0.6 \pm 0.1
<i>iso</i> -15:0	0.1 \pm 0.1	—	0.1 \pm 0.2	0.7 \pm 1.2	1.0 \pm 0.3	0.8 \pm 0.2	0.7 \pm 0.3	0.7 \pm 0.1
<i>anteiso</i> -15:0	3.1 \pm 0.6	4.1 \pm 2.9	0.9 \pm 0.4	1.2 \pm 0.7	0.5 \pm 0.2	2.0 \pm 0.3	0.8 \pm 0.4	0.4 \pm 0.1
16:0	4.0 \pm 0.2	2.7 \pm 0.4	3.5 \pm 0.8	8.5 \pm 2.3	4.1 \pm 0.9	4.2 \pm 0.5	3.3 \pm 0.5	2.5 \pm 0.1
16:1(n-7)	10.3 \pm 2.3	6.5 \pm 2.0	1.5 \pm 0.9	1.7 \pm 0.2	0.8 \pm 0.1	4.9 \pm 0.1	0.6 \pm 0.5	0.4 \pm 0.2
16:2	1.6 \pm 0.6	0.8 \pm 0.0	—	—	—	—	—	0.7 \pm 0.1
<i>Iso</i> -17:0	0.1 \pm 0.1	—	0.6 \pm 0.3	0.9 \pm 0.3	0.6 \pm 0.2	0.9 \pm 0.2	1.0 \pm 0.3	0.6 \pm 0.1
16:3(n-4)	1.5 \pm 0.4	1.2 \pm 0.1	—	—	—	—	—	0.5 \pm 0.0
<i>Iso</i> -18:0	0.1 \pm 0.1	0.1 \pm 0.1	0.1 \pm 0.2	1.1 \pm 0.2	0.4 \pm 0.0	0.7 \pm 0.2	1.2 \pm 0.2	0.3 \pm 0.0
16:4(n-1)	6.2 \pm 2.3	6.7 \pm 1.3	—	—	—	—	—	—
18:0	4.3 \pm 0.2	4.4 \pm 0.6	2.9 \pm 0.3	5.2 \pm 0.8	4.0 \pm 1.0	3.9 \pm 2.2	2.6 \pm 0.4	3.5 \pm 0.7
18:1(n-9)	3.0 \pm 0.7	2.2 \pm 1.0	2.5 \pm 0.7	5.4 \pm 1.2	2.9 \pm 0.9	4.3 \pm 0.3	2.6 \pm 0.7	2.0 \pm 0.3
18:1(n-7)	2.4 \pm 0.6	1.9 \pm 0.1	1.4 \pm 0.5	6.5 \pm 1.5	2.9 \pm 0.6	8.5 \pm 0.6	3.4 \pm 0.1	2.7 \pm 0.0
18:2(n-6)	0.7 \pm 0.1	0.7 \pm 0.5	0.7 \pm 0.2	1.6 \pm 0.9	1.6 \pm 0.4	1.7 \pm 0.9	1.6 \pm 0.8	0.8 \pm 0.7
19:0	0.6 \pm 0.1	0.2 \pm 0.0	0.8 \pm 0.3	0.7 \pm 0.4	1.6 \pm 0.2	0.8 \pm 0.0	0.9 \pm 0.1	2.7 \pm 0.5
20:0	0.9 \pm 0.1	0.7 \pm 0.1	0.9 \pm 0.0	1.8 \pm 0.1	2.5 \pm 1.9	1.4 \pm 0.0	1.3 \pm 0.2	2.2 \pm 0.3
20:1(n-13)	1.7 \pm 0.3	2.6 \pm 0.6	4.2 \pm 1.1	1.4 \pm 0.3	2.3 \pm 0.3	2.1 \pm 0.2	1.2 \pm 0.2	2.4 \pm 0.6
20:1(n-9)	1.3 \pm 0.2	0.6 \pm 0.1	4.8 \pm 1.6	6.5 \pm 2.8	1.0 \pm 0.2	0.8 \pm 0.5	0.3 \pm 0.2	0.9 \pm 0.2
20:1(n-7)	1.0 \pm 0.3	0.3 \pm 0.1	0.5 \pm 0.1	1.4 \pm 0.4	0.9 \pm 0.1	0.7 \pm 0.7	0.7 \pm 0.6	1.0 \pm 0.3
21:0	0.5 \pm 0.1	0.4 \pm 0.1	1.0 \pm 0.1	1.0 \pm 0.2	1.1 \pm 0.3	0.8 \pm 0.1	2.3 \pm 0.5	1.4 \pm 0.2
20:4(n-6)	1.2 \pm 0.4	2.7 \pm 0.9	23.8 \pm 6.9	8.6 \pm 2.8	31.6 \pm 2.9	39.0 \pm 0.9	35.7 \pm 2.3	29.6 \pm 3.3
20:5(n-3)*	1.1 \pm 0.1	9.3 \pm 0.5	—	—	—	—	—	—
20:5(n-3)	38.8 \pm 5.5	37.9 \pm 1.7	20.2 \pm 1.5	20.3 \pm 4.1	13.6 \pm 0.2	3.7 \pm 0.2	8.5 \pm 1.2	18.4 \pm 1.4
22:0	0.8 \pm 0.1	0.6 \pm 0.3	1.0 \pm 0.1	1.4 \pm 0.3	0.6 \pm 0.3	0.6 \pm 0.0	1.4 \pm 0.2	0.1 \pm 0.0
21:4(n-7)	0.8 \pm 0.1	0.7 \pm 0.2	—	—	4.1 \pm 0.1	2.8 \pm 0.0	6.5 \pm 1.6	4.5 \pm 0.2
22:1(n-11)	0.9 \pm 0.1	0.8 \pm 0.2	1.6 \pm 0.5	1.7 \pm 0.1	0.8 \pm 0.3	0.6 \pm 0.0	0.3 \pm 0.4	0.2 \pm 0.2
22:1(n-9)	1.5 \pm 0.3	1.2 \pm 0.6	1.2 \pm 1.0	2.9 \pm 0.3	0.6 \pm 0.2	0.6 \pm 0.0	0.2 \pm 0.3	0.2 \pm 0.3
22:1(n-7)	0.5 \pm 0.0	0.3 \pm 0.3	1.1 \pm 0.3	—	3.0 \pm 1.2	6.9 \pm 0.1	4.3 \pm 0.3	3.2 \pm 0.6
22:5(n-6)	—	—	1.5 \pm 0.7	—	1.6 \pm 0.3	0.9 \pm 0.1	2.3 \pm 0.3	1.4 \pm 0.2
22:5(n-3)	0.2 \pm 0.2	0.3 \pm 0.1	0.2 \pm 0.3	0.8 \pm 0.4	0.8 \pm 0.1	0.2 \pm 0.0	0.9 \pm 0.2	1.3 \pm 0.2
22:6(n-3)	2.6 \pm 0.3	2.6 \pm 0.7	8.2 \pm 4.0	7.7 \pm 2.2	7.6 \pm 2.1	1.5 \pm 0.2	4.7 \pm 0.2	7.5 \pm 0.5
23:1(n-9)	3.7 \pm 0.9	5.7 \pm 1.8	13.2 \pm 2.8	5.3 \pm 1.1	6.6 \pm 2.2	3.9 \pm 0.3	6.8 \pm 0.7	6.3 \pm 0.7
24:1(n-9)	0.7 \pm 0.1	—	—	—	0.1 \pm 0.1	—	3.5 \pm 0.5	0.9 \pm 0.1
Σ НЖК	13.9 \pm 1.4	11.2 \pm 2.0	9.9 \pm 1.9	22.7 \pm 2.7	12.1 \pm 2.9	11.0 \pm 2.8	9.0 \pm 0.8	8.9 \pm 1.1
Σ МНЖК	27.0 \pm 1.7	22.1 \pm 2.5	32.0 \pm 1.2	32.8 \pm 3.5	21.9 \pm 2.3	33.3 \pm 0.7	23.9 \pm 1.2	20.2 \pm 1.3
Σ ПНЖК	54.7 \pm 3.0	62.9 \pm 1.7	54.7 \pm 3.9	39.0 \pm 4.9	60.9 \pm 2.5	49.6 \pm 1.3	60.2 \pm 2.7	64.7 \pm 1.5
Σ бактериальных ЖК	4.5 \pm 0.7	4.8 \pm 3.3	3.5 \pm 1.0	5.6 \pm 2.3	5.2 \pm 0.6	6.0 \pm 0.9	6.9 \pm 1.0	6.1 \pm 0.5
16:1(n-7)/16:0	2.6 \pm 0.5	2.4 \pm 1.0	0.4 \pm 0.2	0.2 \pm 0.1	0.2 \pm 0.0	1.2 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1
20:4(n-6)/20:5(n-3)	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	1.2 \pm 0.3	0.4 \pm 0.1	2.3 \pm 0.2	10.5 \pm 0.8	4.2 \pm 0.6	1.6 \pm 0.3

*Второй изомер 20:5(n-3).

Примечание. Представлены кислоты с концентрацией 1% и более; жирным шрифтом отмечены жирные кислоты с максимальной концентрацией более 5%, использованные для мультивариантного анализа.

группы и группы I обусловлено различиями в концентрациях 20:4(n-6), 20:5(n-3) и 16:1(n-7), а разделение групп III и II – в концентрациях 20:4(n-6), 20:5(n-3), 20:1(n-9) и 21:4(n-7) (табл. 3). Внутри группы III образцы голотурий, обитающих в толще донных осадков (мольпадида *M. orientalis* и аспидохиротиды *Pseudostichopus mollis*), выделялись самым низким содержанием 20:5(n-3) и самы-

ми высокими значениями отношения 20:4(n-6)/20:5(n-3) (табл. 2).

Анализ состава жирных кислот с помощью метода главных компонент надежно подтвердил разделение исследованных образцов голотурий на три группы со сходством внутри групп не менее 75% (рис. 2). Первая и вторая главные компоненты вместе объясняли 84.5% ва-

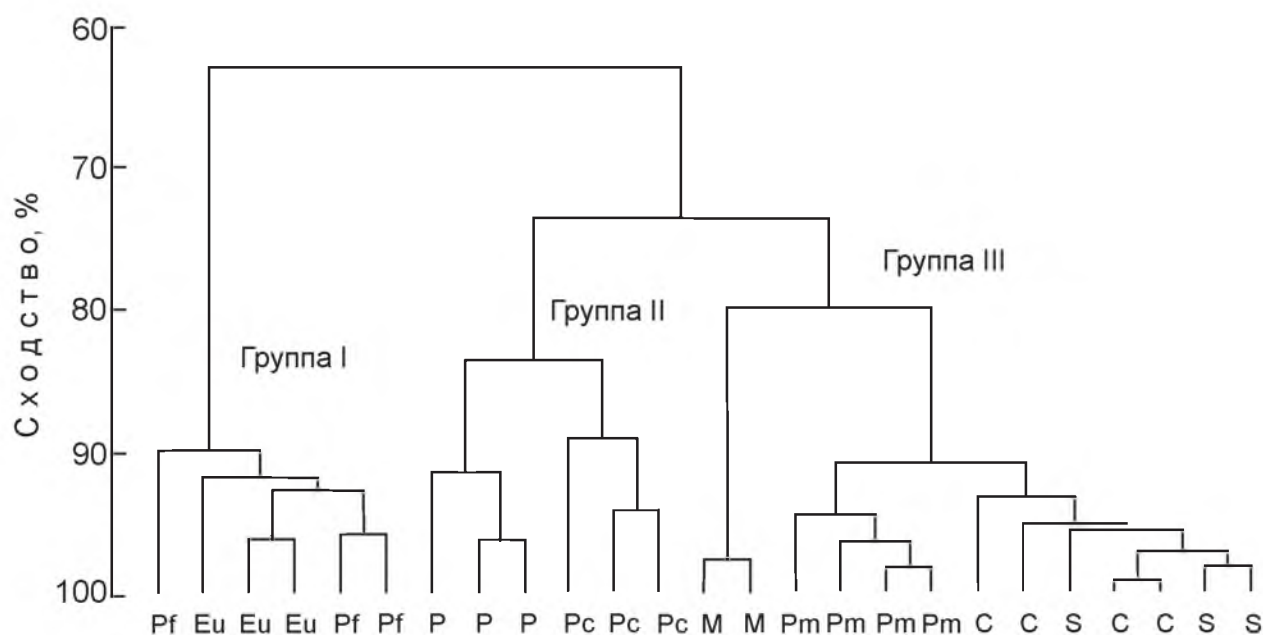


Рис. 1. Дендрограмма сходства состава жирных кислот общих липидов голотурий (коэффициент Брея–Кертиса), обитающих в районе Курильских островов. Eu – *Eupentacta pusilla*, Pf – *Pseudocnus fallax*, Pc – *Psolus chitonoides*, P – *Psolidium* sp., C – *Chiridota* sp., M – *Molpadia orientalis*, Pm – *Pseudostichopus mollis*, S – *Synallactes nozawai*.

Таблица 3. Различия в составе жирных кислот между группами голотурий (SIMPER анализ)

Жирная кислота	Среднее первой сравниваемой группы, %	Среднее второй сравниваемой группы, %	Процент вклада	Кумулятивный процент
Группа I – группа II (различие 49.1%)				
20:5(n-3)	38.4	20.3	29.6	29.6
20:4(n-6)	2.0	16.2	22.9	52.5
16:1(n-7)	8.4	1.6	11.1	63.6
16:4(n-1)	6.4	0	10.5	74.1
Группа I – группа III (различие 64.8%)				
20:4(n-6)	2.0	33.6	36.6	36.6
20:5(n-3)	38.4	11.6	31.0	67.6
16:1(n-7)	8.4	1.3	8.3	75.9
16:4(n-1)	6.4	0	7.5	83.4
Группа II – группа III (различие 38.3%)				
20:4(n-6)	16.2	33.6	36.1	36.1
20:5(n-3)	20.3	11.6	18	54.1
20:1(n-9)	5.7	0.7	10.1	64.2
21:4(n-7)	0	4.8	9.7	73.9

Примечание. В таблице представлены жирные кислоты, которые в сумме дают не менее 70% различий между группами.

риаций. В разделение вдоль первой главной компоненты наибольший вклад с нагрузкой > 0.3 или < -0.3 вносили жирные кислоты 20:4(n-6), 16:1(n-7), 22:1(n-7), 21:4(n-7) и 20:5(n-3). В разделение вдоль второй главной компоненты основной вклад вносили жирные кислоты 20:1(n-9), 21:4(n-7), 16:4(n-1), 22:1(n-7) и 22:6(n-3).

Анализ изотопного состава азота и углерода выявил существенные межвидовые различия среди большинства исследованных голотурий на фоне очень больших (более 10‰) диапазонов вариаций значений как $\delta^{15}\text{N}$, так и $\delta^{13}\text{C}$ (табл. 1). Различия в изотопном составе между особями

одного вида, собранными на разных глубинах, как и в составе жирных кислот, были невелики (табл. 1), и внутривидовые вариации показателей $\delta^{15}\text{N}$ и $\delta^{13}\text{C}$ не превышали 2‰. Дендрохиротиды *E. pusilla* и *P. fallax*, обособленные в группу I по составу жирных кислот, также сильно отличались от остальных видов очень низкими значениями $\delta^{15}\text{N}$ и $\delta^{13}\text{C}$. Дендрохиротиды *P. chitonoides* и *Psolidium* sp. (группа II) оказались близки по степени обогащения изотопом ^{15}N к аподиде *Chiridota* sp. и мольпадиде *M. orientalis* из группы III (рис. 2), хотя *Psolidium* sp. выделялся среди всех голотурий самыми высокими значениями $\delta^{13}\text{C}$. Среди

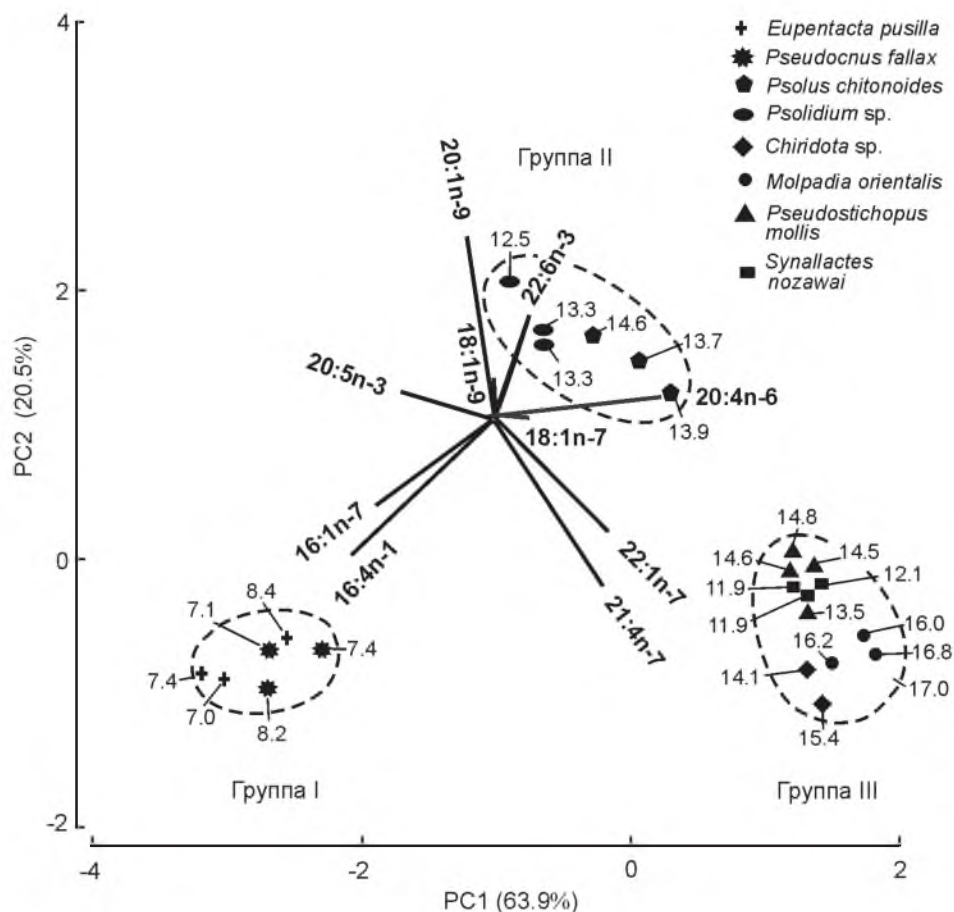


Рис. 2. Положение трех групп голотурий в пространстве двух первых главных компонент по данным анализа жирных кислот. Цифры у значков, показывающих вид голотурии, — значение $\delta^{15}\text{N}$.

голотурий группы III у аспидохиротиды *P. mollis* значения $\delta^{15}\text{N}$ были наибольшими, а у *S. nozawai* наименьшими.

ОБСУЖДЕНИЕ

Сопоставляя состав жирных кислот со строением ротового аппарата и составом стабильных изотопов, характеризующими питание голотурий, мы связываем различия в содержании определенных жирных кислот с различиями в потребляемой пище.

У собранных на глубине 90–150 м *Eupentacta pusilla* и *Pseudocnus fallax* (группа I) щупальца древовидные (Левин, 1999), приспособленные, как и щупальца многих других дендрохиротид, к улавливанию частиц взвешенного органического вещества. По изотопному составу эти виды могут быть отнесены к консументам первого порядка. Низкие значения $\delta^{15}\text{N}$ и $\delta^{13}\text{C}$, определенные у данных видов, близки к таковым планктонных ракообразных Охотского моря, питающихся преимущественно микроводорослями (Gorbatenko et al., 2014). Проведенный нами микроскопический анализ показал наличие живых диатомей в кишечнике *P. fallax*. В составе липидов *E. pusilla* и *P. fallax* нами обнаружены маркерные для планктонных диатомей жирные кислоты 16:4(n-1) и 16:3(n-4) в высоких концентрациях, что редко встречается у морских бес-

позвоночных (Dalsgaard et al., 2003; Харламенко и др., 2008). Другие маркеры диатомей — отношение 16:1(n-7)/16:0, превышающее единицу, и высокое содержание 20:5(n-3) — также указывают на доминирование диатомовых водорослей в пище этих голотурий. Интересной особенностью является присутствие в липидах двух дендрохиротид второго метилен-разделенного изомера 20:5(n-3). Возможно, это первое обнаружение двух метилен-разделенных изомеров 20:5, но конъюгированные, были обнаружены в морских водорослях (Lopez, Gerwick, 1987). С помощью микроскопических методов показано, что мелководные голотурии-сестонофаги в период цветения диатомей питаются только ими, а в другое время могут использовать в пищу простейших, зоопланктон и личинок морских беспозвоночных (Fankboner, 1978; Hamel et al., 1993; Hamel, Mercier, 1998). В составе липидов мелководных дендрохиротид из дальневосточных морей доминирует жирная кислота 20:5(n-3) фитопланктонного происхождения (Isay, Busarova, 1984; Rybin et al., 2007), в значительном количестве (от 10 до 25%) присутствуют бактериальные жирные кислоты (Svetashev et al., 1991; Kharlamenko et al., 1995; Rybin et al., 2007). По сравнению с мелководными дендрохиротидами, *E.*

pusilla и *P. fallax* характеризуются наиболее высокой концентрацией 20:5(n-3), низким содержанием (около 4%) бактериальных жирных кислот и крайне низкими (< 0.1) значениями отношения 20:4(n-6)/20:5(n-3). Очевидно, что жирнокислотный состав этих видов является типичным для сестонофагов, питающихся преимущественно живыми планктонными диатомеями.

Дендрохиротиды из семейства Psolidae – *P. chitonoides* и *Psolidium* sp., составившие группу II (рис. 2), обладают более сложными, чем кукумарииды, древовидными щупальцами (Левин, 1999), приспособленными для собирания взвеси. Однако очень высокие значения $\delta^{15}\text{N}$ у этих видов, добытых с глубин 350–450 м (табл. 1), по сравнению с потребляющими взвешенное органическое вещество голотуриями группы I и зоопланктоном, указывают или на более высокий трофический статус голотурий группы II, или на их питание многократно переработанным органическим веществом (Iken et al., 2001). Ранее с помощью микроскопических методов была показана способность *P. chitonoides* в мелководных условиях питаться животной пищей (копеподами и личинками ракообразных) (Fankboner, 1978). В результате микроскопического анализа в кишечнике *P. chitonoides* наряду с планктонными диатомеями и тинтиннидами нами выявлено большое количество бентосных фораминифер. В липидах псолид отсутствовали маркеры диатомей 16:4(n-1) и 16:3(n-4), а также второй изомер 20:5(n-3). Концентрация ПНЖК 20:5(n-3) была более низкой, а 20:4(n-6) более высокой, чем у голотурий-сестонофагов из группы I. Фораминиферы с недавнего времени стали рассматриваться как основной источник 20:4(n-6) в глубоководных экосистемах (Würzberg et al., 2011). Высокие концентрации 20:4(n-6) и значения $\delta^{15}\text{N}$ у псолид указывают на использование в пищу мейобентоса, включая фораминифер, что позволяет отнести этих голотурий к собирающим детритофагам. Ранее способность питаться с поверхности донных осадков была выявлена у абиссальных дендрохиротид (Соколова, 1986).

Изученные нами представители аподид, мольпадид и аспидохиротид, объединенные в группу III (рис. 2), характеризовались очень высоким (> 25%) содержанием 20:4(n-6) и низкими концентрациями ПНЖК планктонного происхождения – 20:5(n-3) и 22:6(n-3). У всех голотурий группы III выявлены высокие концентрации редкой ПНЖК 21:4(n-7). Среди начальных звеньев пищевых сетей эта кислота в значительном количестве была обнаружена в траустохитридах (Chang et al., 2011), и мы полагаем, что они могут быть важным компонентом в морских пищевых сетях. Высокие значения $\delta^{15}\text{N}$ у голотурий группы III сходны с таковыми у абиссальных голотурий (Iken et al., 2001), что указывает на питание органическим веществом, многократно переработанным в донных осадках. Однако можно отметить существенные различия в составе жирных кислот у видов группы III, что связано с разделением трофических ресурсов.

Molpadia orientalis обитает в толще донных осадков. У этой голотурии 15 пальчатых щупалец с терми-

нальным пальцем и двумя–тремя латеральными пальцами (Степанов, Морозов, 2014). Мольпадид относят к грунтоедом, питающимся исключительно органическим веществом донных осадков (Roberts et al., 2000). Содержимое их кишечника характеризуется высоким разнообразием прокариот (Amaro, 2012). Липиды *M. orientalis* выделялись низким общим содержанием ПНЖК, самыми низкими концентрациями 20:5(n-3) и 22:6(n-3) и самым высоким содержанием 20:4(n-6) при наибольшем отношении 20:4(n-6)/20:5(n-3). Содержание маркерных для бактерий разветвленных жирных кислот было незначительно выше, чем у остальных голотурий, однако концентрации жирных кислот 18:1(n-7) и 16:1(n-7), являющихся обычно главными в липидах бактерий, были значительно выше. Мы полагаем, что основными источниками пищи для грунтоеда *M. orientalis* является органическое вещество донных осадков с низким содержанием ПНЖК, а также бактерии и протисты, обитающие в донных осадках.

Pseudostichopus mollis, также обитающая в толще донных осадков, добывает пищу при помощи 20 щитовидных щупалец. Этот вид при общем сходстве с *M. orientalis* (рис. 2) значимо отличался от мольпадиды более высоким общим содержанием ПНЖК, меньшими отношениями 20:4(n-6)/20:5(n-3) и самыми высокими значениями $\delta^{15}\text{N}$. Полученные данные свидетельствуют о разделении трофических ниш между этими двумя видами грунтоедов, возможно, за счет питания на разных уровнях в толще грунта. Мы полагаем, что *P. mollis* использует более высоко расположенные слои грунта, чем *M. orientalis*, что проявляется в повышенных концентрациях ПНЖК планктонного происхождения [20:5(n-3) и 22:6(n-3)].

Аспидохиротида *Synallactes nozawai* и аподиды *Chiridota* sp. питаются на поверхности донных осадков. *Chiridota* sp. ведет малоподвижный образ жизни в убежищах и собирает пищевые частицы пальчатоперистыми щупальцами, вытягивая их по поверхности дна. Подвижный вид *S. nozawai* может передвигаться даже по поверхности осадков, собирая частицы щитовидными щупальцами. В кишечнике этого вида было обнаружено много как бентосных фораминифер, так и живых планктонных диатомей. Несмотря на различия в образе жизни и строении ротовых щупалец, у этих видов не обнаружено значимых различий в составе жирных кислот и стабильных изотопов. По составу жирных кислот они занимают промежуточное положение между грунтоедом и собирающими детритофагами-псолидами, хотя находятся ближе к первым (рис. 2). От псолид они отличаются более высоким содержанием 20:4(n-6) и наличием 21:4(n-7), от грунтоедов – высоким содержанием ПНЖК планктонного происхождения. Очевидно, *S. nozawai* и *Chiridota* sp. наиболее эффективно используют в качестве трофического ресурса самый верхний слой осадков (наилот).

Результаты сравнительного исследования восьми видов глубоководных голотурий Охотского моря выявили существенные различия в составе их жирных кислот. Большинство обнаруженных различий хорошо согласу-

ется с вариациями изотопного состава азота и углерода в тканях голотурий, а также с особенностями образа жизни и строения щупальцевого аппарата исследованных видов. Это дает основание связывать особенности состава жирных кислот разных видов голотурий с типом их питания и с используемыми ими трофическими ресурсами. Комплексный анализ состава жирных кислот и стабильных изотопов в тканях голотурий позволяет показать, каким образом осуществляется разделение трофических ресурсов между видами голотурий со сходным типом питания.

Авторы благодарны экипажу и участникам экспедиции 53-го рейса НИС "Академик Опарин", без которых данное исследование было бы невозможно, а также рецензентам, замечания которых позволили значительно улучшить первоначальный вариант статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Левин В.С. Питание мелководных голотурий и его влияние на донные осадки. СПб.: Политехника. 1999. 254 с.
- Соколова М.Н. Питание и трофическая структура глубоководного макрозообентоса. М.: Наука. 1986. 208 с.
- Степанов В.Г., Морозов Т.Б. Голотурии рода *Molpadia* Risso, 1826 (Molpadiida: Molpadiidae) шельфа Камчатки и Курильских островов // Биол. моря. 2014. Т. 40, № 2. С. 100–107.
- Стоник В.А. Изучение природных соединений в Тихоокеанском институте биоорганической химии // Вестн. ДВО РАН. 2005. № 4. С. 138–144.
- Харламенко В.И., Кияшко С.И., Родькина С.А. и др. 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.
- Amaro T., Luna G.M., Danovaro R. et al. High prokaryotic biodiversity associated with gut contents of the holothurian *Molpadia musculus* from the Nazaré Canyon (NE Atlantic) // Deep-Sea Res. Part I: Oceanogr. Res. Pap. 2012. Vol. 63. P. 82–90.
- Billett D.S.M. Deep-sea holothurians // Oceanogr. Mar. Biol. 1991. Vol. 29. P. 259–317.
- Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification // Can. J. Biochem. Physiol. 1959. Vol. 37, no. 8. P. 911–917.
- Bühning S.I., Koppelman R., Christiansen B., Weikert H. Are Rhodophyceae a dietary component for deep-sea holothurians? // J. Mar. Biol. Assoc. U. K. 2002. Vol. 82, no. 2. P. 347–348.
- Carreau J.P., Dubacq J.P. Adaptation of macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extracts // J. Chromatogr. A. 1978. Vol. 151, no. 3. P. 384–390.
- Chang K.J.L., Mansour M.P., Dunstan G.A. et al. Odd-chain polyunsaturated fatty acids in thraustochytrids // Phytochemistry. 2011. Vol. 72, no. 11–12. P. 1460–1465.
- Dalsgaard J., St. John M., Katner G. et al. Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment // Adv. Mar. Biol. 2003. Vol. 46. P. 225–340.
- Fankboner P.V. Suspension-feeding mechanisms of the armoured sea-cucumber *Psolus chitinoides* Clark // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1978. Vol. 31. P. 11–25.
- Ginger M.L., Santos V., Wolff G.A. A preliminary investigation of the lipids of abyssal holothurians from the north-east Atlantic Ocean // J. Mar. Biol. Assoc. U. K. 2000. Vol. 80, no. 1. P. 139–146.
- Gorbatenko K.M., Lazhentsev A.E., Kiyashko S.I. Seasonal dynamics of the trophic status of zooplankton in the Sea of Okhotsk (based on data from stable carbon and nitrogen isotope analysis) // Russ. J. Mar. Biol. 2014. Vol. 40, no. 7. P. 519–531.
- Hamel J.F., Himmelman J.H., Dufresne L. Gametogenesis and spawning of the sea cucumber *Psolus fabricii* (Duben and Koren) // Biol. Bull. 1993. Vol. 184, no. 2. P. 125–143.
- Hamel J.F., Mercier A. Diet and feeding behaviour of the sea cucumber *Cucumaria frondosa* in the St. Lawrence estuary, eastern Canada // Can. J. Zool. 1998. Vol. 76, no. 6. P. 1194–1198.
- Hudson I.R., Pond D.W., Billett D.S.M. et al. Temporal variations in fatty acid composition of deep-sea holothurians: evidence of benthic-pelagic coupling // Mar. Ecol. Progr. Ser. 2004. Vol. 281. P. 109–120.
- Iken K., Brey T., Wand U. et al. Food web structure of the benthic community at the Porcupine Abyssal Plain (NE Atlantic): a stable isotope analysis // Progr. Oceanogr. 2001. Vol. 50, no. 1–4. P. 383–405.
- Isay S.V., Busarova N.G. Study on fatty acid composition of marine organisms. – I. Unsaturated fatty acids of Japan Sea invertebrates // Comp. Biochem. Physiol. B: Biochem. Mol. Biol. 1984. Vol. 77, no. 4. P. 803–810.
- Kelly J.R., Scheibling R.E. Fatty acids as dietary tracers in benthic food webs // Mar. Ecol. Progr. Ser. 2012. Vol. 446. P. 1–22.
- Kharlamenko V.I., Zhukova N.V., Khotimchenko S.V. et al. Fatty acids as markers of food sources in a shallow-water hydrothermal ecosystem (Kraternaya Bight, Yankich Island, Kurile Islands) // Mar. Ecol. Progr. Ser. 1995. Vol. 120, no. 1–3. P. 231–241.
- Kiyashko S.I., Kharlamenko V.I., Sanamyan K. et al. Trophic structure of the abyssal benthic community in the Sea of Japan inferred from stable isotope and fatty acid analyses // Mar. Ecol. Progr. Ser. 2014. Vol. 500. P. 121–137.
- Lopez A., Gerwick W.H. Two new eicosapentaenoic acids from the temperate red seaweed *Ptilota filicina* J. Agardh // Lipids. 1987. Vol. 22, no. 3. P. 190–194.
- Massin C. Food and feeding mechanisms: Holothuroidea // Echinoderm nutrition. Rotterdam: Balkema. 1982. P. 43–55.
- Neto R.R., Wolff G.A., Billett D.S.M. et al. The influence of changing food supply on the lipid biochemistry of deep-sea holothurians // Deep-Sea Res. Part I: Oceanogr. Res. Pap. 2006. Vol. 53, no. 3. P. 516–527.
- Roberts D., Gebruk A., Levin V., Manship B.A.D. Feeding and digestive strategies in deposit-feeding holothurians // Oceanogr. Mar. Biol. 2000. Vol. 38. P. 257–310.
- Rybin V., Pavel K., Boltenkov E. et al. Fatty acids composition of two *Holothuroidea* species – *Cucumaria japonica* and *C. okhotsensis* // Nat. Prod. Commun. 2007. Vol. 2, no. 8. P. 849–852.
- Svetashev V.I. Mild method for preparation of 4,4-dimethyloxazoline derivatives of polyunsaturated fatty acids for GC-MS // Lipids. 2011. Vol. 46, no. 5. P. 463–467.
- Svetashev V.I., Levin V.S., Lam C.N., Nga D.T. Lipid and fatty acid composition of holothurians from tropical and temperate waters // Comp. Biochem. Physiol. B: Biochem. Mol. Biol. 1991. Vol. 98, no. 4. P. 489–494.
- Würzberg L., Peters J., Schuller M., Brandt A. Diet insights of deep-sea polychaetes derived from fatty acid analyses // Deep-Sea Res. Part II: Top. Stud. Oceanogr. 2011. Vol. 58, no. 1–2. P. 153–162.