

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ИССЛЕДОВАНИЯХ СПЕКТРОВ ПИТАНИЯ ЛИЧИНОК ХИРОНОМИД В РЕКЕ БОЛЬШОЙ (ЗАПАДНАЯ КАМЧАТКА)

Е.И. Кальченко<sup>1</sup>, Т.Н. Травина<sup>1</sup>, А.А. Попков<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Государственный научный центр Российской Федерации. Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Камчатский филиал (КамчатНИРО), ул. Набережная, 18, г. Петропавловск-Камчатский, 683000, Россия.

E-mail: [e.kalchenko@kamniro.vniro.ru](mailto:e.kalchenko@kamniro.vniro.ru)

<sup>2</sup>Государственный научный центр Российской Федерации. Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Тихоокеанский филиал (ТИНРО), переулок Шевченко, 4, г. Владивосток, 690091, Россия.

E-mail: [mr.aleksandr.popkov@mail.ru](mailto:mr.aleksandr.popkov@mail.ru)

С помощью метода биомаркерных жирных кислот установлены источники питания массовых видов личинок хирономид (*Pagastia orientalis*, *Orthocladius frigidus*, *Micropsectra* gr. *praecox*) в лососевой реке Большой. Показано влияние условий обитания на различных биотопах речной экосистемы на специфику питания этих организмов. Сделан вывод, что личинки хирономид обладают высокой пищевой пластичностью и потребляют доступные кормовые объекты.

## USAGE OF FATTY ACIDS IN STUDIES OF FEEDING SPECTRA OF CHIRONOMID LARVAE IN THE BOLSHAYA RIVER (WESTERN KAMCHATKA)

E.I. Kalchenko<sup>1</sup>, T.N. Travina<sup>1</sup>, A.A. Popkov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>State Scientific Center of the Russian Federation. Federal State Budgetary Scientific Institution All-Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography, Kamchatka branch (KamchatNIRO), Naberezhnaya str., 18, Petropavlovsk-Kamchatsky, 683000, Russia. E-mail: [e.kalchenko@kamniro.vniro.ru](mailto:e.kalchenko@kamniro.vniro.ru)

<sup>2</sup>State Scientific Center of the Russian Federation. Federal State Budgetary Scientific Institution All-Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography, Pacific branch (TINRO), Shevchenko str., 4, Vladivostok, 690091, Russia. E-mail: [mr.aleksandr.popkov@mail.ru](mailto:mr.aleksandr.popkov@mail.ru)

Sources of feeding of chironomid larvae of mass species (*Pagastia orientalis*, *Orthocladius frigidus*, *Micropsectra* gr. *praecox*) in the basin of the salmon river Bolshaya have been identified using the method of biomarker fatty acids. The influence of habitat conditions in different biotopes of the river ecosystem on the feeding specifics of these organisms is demonstrated. It is concluded that chironomid larvae have extensive diet plasticity and consume available forage objects.

### Введение

Река Большая является одной из важнейших по воспроизводству всех видов тихоокеанских лососей на западном побережье Камчатки. В речном бассейне нагуливается молодь лососей естественного и заводского воспроизводства. Ежегодно суммарный выпуск с двух лососевых рыбоводных заводов (ЛРЗ) составляет 16 млн экз. рыб. Известно, что источником пищи для рыб в речных экосистемах является макрозообентос. В р. Большая молодь лососей питается личинками и куколками

амфибиотических насекомых (хирономид, поденок, веснянок, ручейников), также потребляет наземных насекомых и ракообразных (Чебанова, 2002). Хирономиды доминируют по численности среди всех прочих организмов бентофауны и являются основным кормовым объектом рыб (Травина, 2005). Качественные показатели и пищевая ценность личинок хирономид для молоди лососей зависят от источников их питания в р. Большая. В настоящее время для установления спектров питания организмов макрозообентоса в пресноводных экосистемах активно используют метод биомаркерных жирных кислот (ЖК), основанный на наличии специфических ЖК у различных кормовых объектов. (Кормилец, 2007; Heintz et al., 2010; Кальченко и др., 2018а, б; 2022).

Цель данной работы: установить источники питания личинок хирономид в р. Большая на основе анализа состава ЖК.

### Материал и методика

Объектами исследования являлись многочисленные виды личинок хирономид сем. Chironomidae (*Pagastia orientalis* Tshern., представители рода *Orthocladius* sp., *Orthocladius frigidus* Zett., *Micropsectra* gr. *praecox*) из басс. р. Большая (западное побережье Камчатки).

Сбор материала проводили на станциях, расположенных в среднем течении р. Плотникова в районе ЛРЗ «Озерки» (станция 1) и в 40 км ниже завода (станция 2), р. Быстрая (станция 3), а также в нижнем течении р. Большая (станция 4) в апреле–сентябре 2014 г. и в апреле–мае 2015 г. Районы сбора проб представлены на рисунке 1.

Сбор проб макрозообентоса проводили бентометром Леванидова, площадь облова составляла 0,12 м<sup>2</sup>. Пробы брали на глубине от 25 до 50 см. Анализ проб выполняли стандартными методами (Методические рекомендации., 2003). Идентификация таксономической принадлежности личинок хирономид по морфологическим признакам проведена по определителям (Макаренченко, 1985).

Для биохимического анализа навеску личинок хирономид (0,5–1,5 г) фиксировали во флаконах 3–5 мл смеси хлороформ-этанол (2:1 по объёму) и хранили при температуре –20 °С в холодильнике до последующего биохимического анализа. Перед анализом пробы гомогенизировали в фарфоровой ступке. Экстракцию



Рис. 1. Карта-схема станций сбора проб личинок хирономид в басс. р. Большая в 2014–2015 гг. Обозначения: 1 – район ЛРЗ «Озерки» (р. Плотникова), 2 – 40 км ниже ЛРЗ «Озерки» (р. Плотникова), 3 – р. Быстрая, 4 – нижнее течение р. Большая

липидов из тканей беспозвоночных проводили смесью растворителей хлороформ-этанол (2:1 по объему) по методу Фолча (Folch et al., 1957). Общее содержание липидов устанавливали гравиметрически. Затем липиды подвергали омылению, ЖК переводили в форму метиловых эфиров и проводили их очистку с помощью препаративной тонкослойной хроматографии в бензоле (Carreau, Dubacq, 1978). Метиловые эфиры ЖК анализировали методом газожидкостной хроматографии на хроматографе «Shimadzu GC-16A» (Япония) с пламенно-ионизационным детектором, снабженным капиллярной колонкой (30 м×0,35 мм) с фазой Supelcowax-10, при температуре 190 °С. Жирные кислоты идентифицировали по индексам Ковача (Christie, 1988). Концентрацию ЖК рассчитывали с помощью базы обработки данных C-R4A Chromopac.

Результаты и обсуждение

Хорошо известно, что основу питания бентосных беспозвоночных составляют фитобентос, бактериопланктон и детрит (Монаков, 1998). Биомаркерные ЖК кормовых объектов пресноводного макрозообентоса, по литературным данным, представлены в таблице 1.

Таблица 1

Биомаркерные ЖК объектов питания пресноводного макрозообентоса по литературным данным

Объект питания	Биомаркерные ЖК	Источник данных
Диатомовые водоросли	16:1ω-7, 16:4ω-1, 16:2ω-4, 16:3ω-4, 20:5ω-3	Ahlgren et al., 1990; Napolitano, 1999
Цианобактерии и зеленые водоросли	16:2ω-6, 16:3ω-3, 16:4ω-3, 18:2ω-6, 18:3ω-3, 18:3ω-6, 18:1ω-9	Ahlgren et al., 1990; Napolitano, 1999
Бактериопланктон	13:0, 15:0, изо-15:0, антеизо-15:0, 17:0, изо-17:0, антеизо-17:0, 18:1ω-7	Shaw, 1974; Napolitano, 1999;
доминирование детрита в питании	18:1ω-7/18:1ω-9 ≥ 1	Ghioni et al., 1996
высшие растения	20:0, 22:0, 24:0, 26:0	Napolitano, 1999

Метод биомаркерных ЖК, в отличие от классического метода определения спектров питания путем анализа содержимого кишечного тракта беспозвоночных, учитывает уже ассимилированное органическое вещество и позволяет получить информацию о рационе организма за достаточно продолжительный период времени (Napolitano, 1999). Этот метод был использован в нашей работе для установления источников питания массовых видов личинок хирономид в р. Большая.

*Pagastia orientalis* (подсем. Diamesinae) имеет крупные личинки, масса их тела может достигать 15 мг. Личинки этого вида по способу питания относятся к соскребателям. В результате анализа содержимого их кишечного тракта нами были обнаружены мелкие личинки хирономид 1-й стадии развития (таксономическая принадлежность не установлена) и диатомовые водоросли, что указывало на смешанный тип питания животными и растительными организмами.

В весенний период (апрель) в составе ЖК общих липидов *P. orientalis* суммарное содержание ЖК-маркеров диатомовых водорослей составляло 46,0 % от суммы всех ЖК, цианобактерий и зеленых водорослей – 11,2 %, бактериопланктона – 3,3 %,

соотношение ЖК-маркеров детрита – 0,37, высшей растительности – 0,3 % (рис. 2).

Биомаркерные ЖК высшей растительности у личинок хирономид были представлены только двумя кислотами (20:0, 22:0).

В летний период (июль) у личинок происходило небольшое снижение доли ЖК-маркеров диатомовых (43,3 %), но повышение – цианобактерий и зеленых водорослей (12,2 %), высшей растительности (0,7 %). В этот период было обнаружено увеличение уровня мононенасыщенных ЖК (МНЖК) с 20 атомами углерода (20:1 $\omega$ -11, 20:1 $\omega$ -9, 20:1 $\omega$ -7) и появление МНЖК с 22 атомами углерода (22:1 $\omega$ -11, 22:1 $\omega$ -9) – маркеров липидов морского происхождения. Содержание МНЖК C<sub>20-22</sub> составляло 2,7 % от суммы всех ЖК. По литературным данным, у пресноводного зообентоса могут синтезироваться МНЖК с 20 атомами углерода в незначительных количествах, а МНЖК с 22 атомами углерода – нет (Heintz et al., 2010). Последние кислоты являются специфическими, поскольку присутствуют только у морских организмов. МНЖК C<sub>20-22</sub> обнаружены в больших количествах у морских ракообразных – копепод (Pascal, Ackman, 1976). Высокое накопление этих ЖК (20,0–28,0 % от суммы всех ЖК) характерно для мышечной ткани производителей тихоокеанских лососей из-за питания ракообразными в морской период жизни (Ромашина и др., 1997; Гладышев и др., 2010). Повышение содержания МНЖК с 20 атомами углерода и появление МНЖК с 22 атомами углерода в теле пресноводных организмов является индикатором включения органического вещества морского происхождения в спектры их питания (Heintz et al., 2010). Органическое вещество морского происхождения может присутствовать в речной экосистеме в виде снётки (разлагающихся тел отнерестовавших производителей лососей) в летне-осенний период. Снётка горбуши в зависимости от стадии разложения содержит МНЖК C<sub>20-22</sub> от 8,2 % до 17,7 % от суммы всех ЖК (Кальченко и др., 2022).

В осенний период (сентябрь) в теле личинок *Pagastia orientalis*, обитающих в нижнем течении р. Большая, доля ЖК-маркеров диатомовых водорослей составляла 24,6 %, цианобактерий и зеленых водорослей – 20,4 %, бактериопланктона – 10,3 %, соотношение ЖК-маркеров детрита – 0,69, высшей растительности – 0,7 %. Содержание МНЖК C<sub>20-22</sub> у хирономид достигало 5,5 % от суммы всех ЖК, что указывало на более высокое потребление органики морского происхождения в этот период.

***Orthocladius* sp.** (подсем. Orhtocladiinae) доминируют по численности среди хирономид в басс. р. Большая в дрифте и бентосе. Масса личинки достигает 1 мг. По способу питания они являются собирателями, совершают вертикальные миграции в толще воды и потребляют, в основном, фитопланктон и альгофлору донных осадков (Монаков, 1998).

В весенний период (апрель) содержание ЖК-маркеров диатомовых водорослей у личинок составляло 43,8 % от суммы всех ЖК, цианобактерий и зеленых водорослей – 16,8 %, бактериопланктона – 5,5 %, соотношение ЖК-маркеров детрита – 0,67, высшей растительности – 0,6 % (рис. 3).

В осенний период (сентябрь) происходило повышение доли ЖК-маркеров диатомовых водорослей (54,8 %), но снижение цианобактерий и зеленых водорослей (13,1 %), бактериопланктона (2,8 %), соотношения ЖК-маркеров детрита (0,32), высшей растительности (0,3 %). Следует отметить, что фитофаги *Orthocladius* sp. имели самый высокий уровень ЖК-маркеров микроводорослей среди исследованных нами личинок хирономид.

Весной (апрель–май) в составе ЖК у личинок хирономид *Orthocladius frigidus*, обитающих в районе ЛРЗ «Озерки», были отмечены более низкие уровни



ЖК-маркеров диатомовых водорослей (36,9 %), но высокие – бактериопланктона (6,2 %) по сравнению с этими показателями на других станциях (рис. 4).

Известно, что рыболовные заводы являются источниками поступления в речные экосистемы органического вещества в виде остатков заводских кормов, погибшей молоди лососей, фекалий и бактерий. Содержание общих липидов у хирономид около завода (18,4 % от сухой массы тела) было выше, чем на биотопе, расположенном в 40 км ниже завода (15,3 %), что указывало на их лучшую кормовую обеспеченность. В качестве основного биохимического критерия идентификации искусственной пищи в питании гидробионтов служит соотношение линолевой (18:2 $\omega$ -6) и линоленовой (18:3 $\omega$ -3) ЖК в их тканях (Seaborn et al., 2000; Кальченко и др., 2018а). У организмов, потребляющих искусственные корма, соотношение 18:2 $\omega$ -6/18:3 $\omega$ -3 всегда превышает единицу в несколько раз за счет более высокого уровня линолевой кислоты и низкого – линоленовой. Так, данный показатель у *Orthocladus frigidus* в районе ЛРЗ составлял 2,4, а на нижних станциях (рр. Плотникова и Быстрая), соответственно, 0,7 и 1,0 (табл. 2).

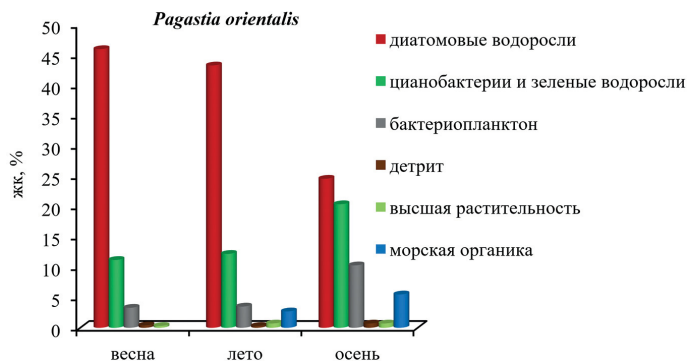
Таблица 2

**Некоторые характеристики состава ЖК общих липидов личинок хирономид *Orthocladus frigidus* в басс. р. Большая и искусственного корма в апреле–мае 2015 г.**

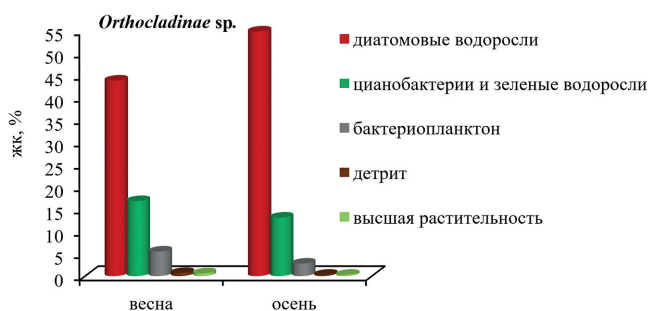
Жирные кислоты, в % от $\Sigma$ всех ЖК	Р. Быстрая	Р. Плотникова	В районе ЛРЗ «Озерки» (р. Плотникова)	Комбикорм
18:2 $\omega$ -6	3,9	4,5	5,1	5,5
18:3 $\omega$ -3	3,5	6,9	2,1	1,1
18:2 $\omega$ -6/18:3 $\omega$ -3	1,0	0,7	2,4	5,0
20:1 $\omega$ -11	0,1	0,2	0,5	1,0
20:5 $\omega$ -3	17,0	19,5	14,9	11,4
Полиненасыщенные $\omega$ -3	29,8	34,2	24,3	22,0

Линолевая кислота содержится в больших количествах в растительных компонентах, присутствующих в комбикормах. Доля эйкозеновой кислоты (20:1 $\omega$ -11) у личинок хирономид около завода была в 2,5–5,0 раз выше, чем у данных организмов из других биотопов. Последнее обстоятельство обусловлено тем, что в искусственных кормах присутствуют ингредиенты рыбного происхождения. Уровень физиологически важных для гидробионтов полиненасыщенных ЖК  $\omega$ -3 типа у *O. frigidus* в районе ЛРЗ составлял 24,3 % от суммы всех ЖК, тогда как на других станциях он был значительно выше за счет эйкозапентаеновой ЖК (20:5 $\omega$ -3) и достигал в р. Плотникова 34,2 %, р. Быстрая – 29,8 %. Питание личинок хирономид органическим веществом заводского происхождения способствовало повышению содержания липидов в теле, но уменьшению доли полиненасыщенных ЖК  $\omega$ -3 типа, что указывало на изменение их пищевой ценности для молоди рыб.

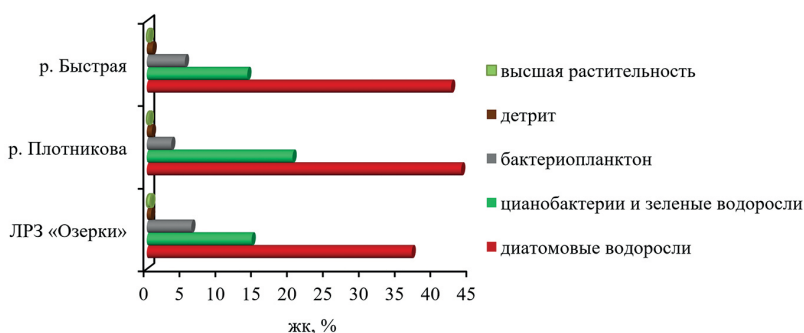
*Micropsectra gr. praecox* (подсем. Chironominae) являются самыми мелкими из исследованных нами личинок хирономид, масса тела достигает 0,6 мг. По способу питания они являются собирателями и потребляют, в основном, водоросли и детрит (Монаков, 1998). Весной (апрель) доля ЖК-маркеров диатомовых водорослей в теле личинок составляла 36,4 % от суммы всех ЖК, цианобактерий и зеленых водорослей – 16,3 %, бактериопланктона – 8,8 %, соотношение ЖК-маркеров детрита – 0,75, высшей растительности – 0,5 % (рис. 5).



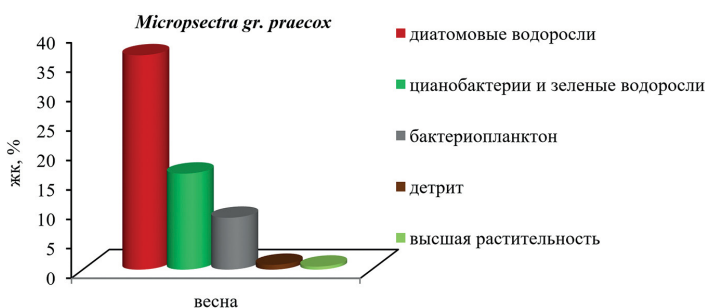
**Рис. 2.** Содержание ЖК-маркеров источников питания в теле личинок хирономид *Pagastia orientalis* в басс. р. Большая весной (апрель), летом (июль) и осенью (сентябрь) 2014 г. (в % от суммы всех ЖК)



**Рис. 3.** Содержание ЖК-маркеров источников питания у личинок хирономид *Orthocladus sp.* в басс. р. Большая весной (апрель) и осенью (сентябрь) 2014 г. (в % от суммы всех ЖК)



**Рис. 4.** Содержание ЖК-маркеров источников питания у личинок хирономид *Orthocladus frigidus* в басс. р. Большая в апреле–мае 2015 г. (в % от суммы всех ЖК)



**Рис. 5.** Содержание ЖК-маркеров источников питания у личинок хирономид *Micropsectra gr. praecox* в басс. р. Большая весной (апрель) 2014 г. (в % от суммы всех ЖК)

В этот период состав ЖК общих липидов *Micropsectra* gr. *praecox* отличался от такового у остальных видов хирономид более низким уровнем ЖК-маркеров диатомовых водорослей, но высоким – бактериопланктона и детрита, что связано с условиями обитания на заиленных участках реки.

### Заключение

С помощью метода биомаркерных ЖК установлено, что источниками питания личинок хирономид в басс. р. Большая являются диатомовые водоросли, цианобактерии и зеленые водоросли, бактериопланктон, детрит, остатки высшей растительности, пресноводная и морская органика животного происхождения, а также органика заводского происхождения. Показано влияние трофических условий обитания на различных биотопах речной экосистемы на специфику питания этих организмов. Так, личинки хирономид *Pagastia orientalis*, обитающие на нерестилищах, в летне-осенний период потребляют органику морского происхождения в виде снётки (разлагающихся тел отнерестовавших производителей тихоокеанских лососей). *Orthocladius frigidus* в районах лососевых рыбоводных заводов питаются органикой заводского происхождения. *Micropsectra* gr. *praecox*, обитающие на заиленных участках реки, потребляют больше бактериопланктона и детрита. Сделан вывод, что личинки хирономид обладают высокой пищевой пластичностью и используют доступные кормовые объекты, т. е. являются эврифагами.

### Литература

- Гладышев М.И., Лепская Е.В., Сущик Н.Н., Махутова О.Н., Калачева Г.С. 2010. Различия жирно-кислотного состава покатной молоди и вернувшихся из моря взрослых особей нерки // Доклады Академии Наук. Т. 430, № 4. С. 548–551.
- Кальченко Е.И., Травина Т.Н., Сергеенко Н.В., Устименко Е.А., Походина М.А., Безлюдская И.Ю., Бугаев В.Ф., Растягаева Н.А., Ким О.О. 2018(а). К вопросу оценки экологической ситуации в реке Большой (Западная Камчатка) в связи с деятельностью рыбоводных заводов // Рыбохозяйственные водоемы России: фундаментальные и прикладные исследования». Санкт-Петербург: Материалы II Всероссийской научной конференции с международным участием. ГосНИОРХ. Из-во ГосНИОРХ. С. 434–439.
- Кальченко Е.И., Травина Т.Н. 2018(б). Установление источников питания гаммарусов в реке Большой (Западная Камчатка) с помощью биомаркерных жирных кислот // Актуальные проблемы изучения ракообразных: тезисы конференции, посвященной 90-летию со дня рождения Николая Николаевича Смирнова. Борок: Из-во «Филигрань». С. 23–24.
- Кальченко Е.И., Травина Т.Н., Походина М.А., Растягаева Н.А., Попков А.А. 2022. Оценка качества макрозообентоса в реке Большой (Западная Камчатка) в связи с нерестовыми заходами производителей тихоокеанских лососей // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. Вып. (65). С. 66–79.
- Кормилец О.Н. 2007. Биомаркерное значение жирных кислот для исследования спектров питания водных беспозвоночных бассейна Енисея: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Красноярск. 24 с.
- Макарченко Е.А. 1985. Хирономиды Дальнего востока СССР. Владивосток: БПИ ДВНЦ АН СССР. 210 с.
- Методические рекомендации по сбору и определению зообентоса при гидробиологических исследованиях водотоков Дальнего Востока России. 2003. М.: ВНИРО. 52 с.
- Монаков А.В. 1998. Питание пресноводных беспозвоночных. М.: Изд-во Россельхозакадемии. 318 с.
- Ромашина Н.А., Слуцкая Т.Н., Холоша О.А. 1997. Исследование липидов мышечной ткани тихоокеанских лососей в период нерестовой миграции // Изв. ТИНРО. Т. 120. С. 184–187.
- Травина Т.Н. 2005. Видовое разнообразие и значение личинок хирономид (Diptera, Chironomidae) в донных сообществах бассейна р. Большая (Западная Камчатка) // Чтения памяти Владимира Яковлевича Леванидова. Вып. 3. Владивосток: Дальнаука. С. 368–373.
- Чебанова В.В. 2002. Кормовая база молоди лососей в бассейнах рек Большая и Паратунка (Камчатка) // Экологическая физиология и биохимия рыб в аспекте продуктивности водоемов. М.: ВНИРО. Т. 141. С. 229–239.

- Ahlgren G., Lundstedt L., Brett M., Forsberg C. 1990.** Lipid composition and food quality of some freshwater phytoplankton for cladoceran zooplankters // *J. Plankton Res.* V. 12. P. 809–818.
- Carreau J.P., Dubacq J.P. 1978.** Adaptation of macro-scale method to the micro-scale for fatty-acid methyl transesterification of biological lipid extracts // *J. Chromatograph.* V. 151, N 3. P. 384–390.
- Christie W.W. 1988.** Equivalent chain-lengths of methyl ester derivatives of fatty acids on gas-chromatography – a reappraisal // *J. Chromatogr. A.* V. 447, N 2. P. 305–314.
- Folch J., Lees M., Sloane–Stanley G.H. 1957.** A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues (for brain, liver and muscle) // *J. Biol. Chem.* V. 226, N 1. P. 497–509.
- Ghioni C., Bell J.C., Sargent J.R. 1996.** Polyunsaturated fatty acids in neutral lipids and phospholipids of some freshwater insects // *Comp. Biochem. Physiol.* V. 114B. P. 161–170.
- Heintz R.A., Wipfli M.S., Hudson J.P. 2010.** Identification of marine-derived lipids in juvenile coho salmon and aquatic insects through fatty acid analysis // *Transactions of the American Fisheries Society.* V. 139. P. 840–854.
- Napolitano, G. E. 1999.** Fatty acids as trophic and chemical markers in freshwater ecosystems // *Lipids in freshwater ecosystems.* New York.: Springer-Verlag. P. 21–44.
- Pascal J.C., Ackman R.G. 1976.** Long chain monoethylenic alcohol and acid isomers in lipids of copepods and capelin // *Chem. Phys. Lipids.* V. 16, N 3. P. 219–223.
- Seaborn G.T., Jahncke M.L., Smith T.J. 2000.** Differentiation between Cultured Hybrid Striped Bass and Wild Striped Bass and Hybrid Bass using Fatty Acid Profiles // *North American Journal of Fisheries Society.* V. 20, N 3. P. 618–626.
- Shaw N. 1974.** Lipid composition as a guide to the classification of bacteria // *Advances in Applied Microbiology.* V. 17, P. 63–108.