

УДК 577.125:597.553.2:591.3

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ЛИПИДОВ В ПРОЦЕССЕ РАННЕГО РАЗВИТИЯ ПРЕСНОВОДНОГО ЛОСОСЯ *Salmo salar* L.¹

© 2009 г. С. А. Мурзина, З. А. Нефедова, Т. Р. Руоколайнен, О. Б. Васильева, Н. Н. Немова

Институт биологии Карельского научного центра РАН
185910 Петрозаводск, ул. Пушкинская, д. 11

E-mail: imagination@onego.ru

Поступила в редакцию 08.04.08 г.
Окончательный вариант получен 14.08.08 г.

Исследована динамика липидного и фосфолипидного составов у пресноводного лосося *Salmo salar* L. в процессе его раннего развития: от этапа образования бластодиска (3 ч) до выклева (108 сут), а также в икре перед ее оплодотворением. Показан высокий и стабильный уровень суммарных липидов, в том числе структурных фосфолипидов, а также относительно высокий уровень триацилглицеринов и некоторое повышение его к моменту выклева личинки, что может свидетельствовать об их использовании в качестве основного энергетического источника после выклева в условиях дефицита корма и малой активности молоди в течение некоторого времени. Запасание определенного уровня липидов в икре лосося перед нерестом важно для развития зародышей и выживания личинок после выклева. Обсуждается значение разнонаправленных изменений уровня структурных липидов, модулирующих степень активности мембранных ферментов, в изменении метаболизма перед выклевом личинки.

Ключевые слова: пресноводный лосось, эмбриогенез, липиды, фосфолипиды, триацилглицерины.

В жизненном цикле атлантического лосося *Salmo salar* L. центральное место занимают размножение, нерест и развитие икры. Одним из биохимических критериев зрелости икры и готовности к оплодотворению является содержание в ней липидов, которое рассматривается как показатель жизнеспособности потомства (Крыжановский, 1960; Haliloglu et al., 2003). Липиды – важные источники метаболической энергии и структурных веществ, а также биоэффекторы, регулирующие внутриклеточные биохимические реакции, межклеточные взаимодействия и различные физиологические процессы (Крепс, 1981; Дятловицкая, Безуглов, 1998). Липидный спектр развивающихся яиц является индикатором энергетических потребностей личинки при переходе на экзогенное питание (Haliloglu et al., 2003). Уровень липидов, сосредоточенных в основном в желтке икры, определяет жизненную стратегию будущего эмбриона и личинки, позволяет оценить их адаптационные возможности к меняющимся условиям среды, а также качество икры (Шатуновский, 1980а, б; Сидоров, 1983; Tocher, 2003; Peng et al., 2003).

Несмотря на многочисленные исследования закономерностей в соотношении отдельных ли-

пидов на некоторых этапах развития разных видов рыб, в том числе лососевых, а также морских ежей и земноводных (Болгова и др., 1985; Нефедова, 1989; Новиков, 2000; Ando, 1962; Halver, 2000; Tocher, 2003; Cejas et al., 2004), функциональная роль липидов и варибельность липидных спектров в процессе эмбриогенеза атлантического лосося остаются еще недостаточно изученными.

Цель настоящей работы – исследование липидного состава (11 групп липидов) зрелой икры атлантического лосося *Salmo salar* L. перед нерестом и в процессе ее эмбрионального развития (6 стадий), а также выяснение функциональной роли запасаения и расходования липидов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Искусственно оплодотворенная икра атлантического лосося с рыболовной станции была доставлена в лабораторию и помещена в холодильную камеру при постоянной температуре +4°C. Икра развивалась на решетках, омываемых речной водой, которую ежедневно меняли. Развивающуюся икру лосося отбирали на следующих стадиях развития (Рыжков, Крупень, 2004): 1 – перед оплодотворением, 2 – образование бластодиска (3 ч), 3 – дробление бластодиска (7 сут), 4 – образование хвостовой почки (27 сут), 5 – начало пульса-

¹ Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проекты № 08-04-01691-а, 08-04-01140-а, 05-04-48729-а) и Программой Президента РФ “Ведущие научные школы” (проект НШ-4310.2006.4, НШ-06.2008.4).

ции сердечной трубки и начало кровообращения (40 сут), 6 – начало пигментации глаз (60 сут), 7 – подготовка к вылуплению и частичный выход зародышей из оболочки (108 сут).

На каждой стадии развития брали пробы (одна икринка) в 10–25 повторностях и фиксировали 96%-ным этиловым спиртом (1 мл). Пробы гомогенизировали в 10-кратном объеме смеси хлороформ-метанол (2 : 1) и хранили на холоде (+4°C) до анализа. Липиды экстрагировали в системе растворителей хлороформ-метанол (2 : 1, по объему) по методу Фолча (Folch et al., 1957) и фракционировали на пластинках Silufol (“Kavalier”, Чехия) в системе растворителей: петролейный эфир-серный эфир-уксусная кислота (90 : 10 : 1, по объему). Количественное содержание суммарных фосфолипидов (ФЛ), триацилглицеринов (ТАГ), эфиров холестерина (ЭХС) определяли гидроксаматным методом (Сидоров и др., 1972; Walch et al., 1965), холестерина (ХС) – методом Энгельбрехта (Engelbrecht et al., 1974) и выражали в процентах от массы сухого вещества. Суммарные фосфолипиды разделяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (Arduini et al., 1996) на стальной колонке Nucleosil 100–7, (“Элсико”, Россия). Подвижная фаза: ацетонитрил-гексан-метанол-ортофосфорная кислота (918 : 30 : 30 : 17.5). Детектирование проводили по степени поглощения света при 206 нм. Для идентификации использовали стандартные ФЛ (“Sigma”, США). Соотношение между фосфолипидными компонентами оценивали по величинам площадей пиков на хроматограмме. Результаты проведенных экспериментов обработаны с применением общепринятых методов вариационной статистики (Ивантер, Коросов, 2003) с использованием компьютерных программ Excel и Stadia.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование динамики суммарных липидов в процессе эмбрионального развития икры пресноводного лосося показало, что их уровень стабилен на всех стадиях (в пределах 23.05–24.01% от сухой массы) и достоверно не отличается от их содержания в преднерестовой икре (22.2%). Накопление и сохранение значительного количества липидов в яйцах лососевых связано с длительностью инкубационного периода (до 7 мес) зародыша, а также с экологическими условиями: личинки выклеваются ранней весной при низкой температуре и ограниченных кормовых возможностях (Крыжановский, 1960; MacFarlane, Norton, 1999; Halver, 2000). В исследованиях других авторов (Гойда и др., 1975; Новиков, 2000) также указывается на отсутствие изменений содержания суммарных липидов в период от оплодотворения до выклева у вьюна, семги, радужной форели, трески, пинагора и амфибий. В раннем онтогенезе рыб важ-

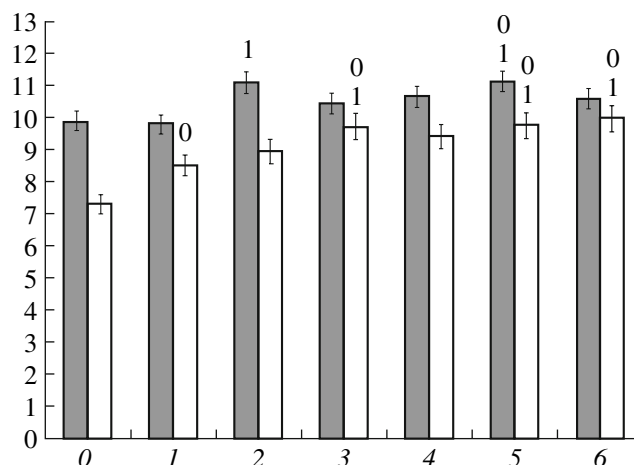


Рис. 1. Динамика содержания фосфолипидов (■) и триацилглицеринов (□) в процессе эмбрионального развития пресноводного лосося *Salmo salar* L.

Здесь и на рис. 2 – по оси абсцисс – стадии развития: 0 – икра перед оплодотворением; 1 – образование бластодиска (3 ч); 2 – дробление бластодиска (7 сут); 3 – образование хвостовой почки (27 сут); 4 – начало пульсации сердечной трубки и начало кровообращения (40 сут); 5 – начало пигментации глаз (60 сут); 6 – подготовка к вылуплению и частичный выход зародыша из оболочки (108 сут); по оси ординат – содержание липидов, % от сухого вещества. Цифры над столбцами – достоверные отличия содержания соединения на исследованных стадиях развития.

ную роль играет углеводный обмен, обеспечивающий энергией морфологические процессы в развивающемся зародыше (Юровицкий, 1999; Boulekbache, 1981).

Было обнаружено, что доминирующей липидной фракцией в зрелой преднерестовой икре лосося, а также на всех стадиях ее эмбрионального развития являются ФЛ (от 9.8 до 11.18% на сухой вес) (рис. 1). На стадиях дробления бластодиска и пигментации глаз отмечено достоверное ($p \leq 0.05$) повышение их содержания по сравнению с предыдущими стадиями, в основном за счет фосфатидилхолина (ФХ) и фосфатидилэтаноламина (ФЭА) (рис. 2). Увеличение уровня ФЛ как мембранных компонентов связано с образованием внутриклеточных структур и дифференцировкой органов. Известно, что ФХ и ФЭА являются также специфическими активаторами ряда мембранных ферментов (Коломийцева и др., 2003). Убыль ФХ и повышение уровня метаболически связанного с ним лизофосфатидилхолина (ЛФХ) перед выклевом личинки ($p \leq 0.01$), возможно, обусловлено активацией гормоночувствительной цитозольной фосфолипазы А2 под влиянием ростовых факторов (Проказова и др., 1998). Накопление ЛФХ повышает проницаемость биомембран для ионов и молекул (Грибанов, 1991; Осадчая и др., 2004). Увеличение ЛФХ может сопровождаться параллельным ростом ФХ, который образуется в ре-

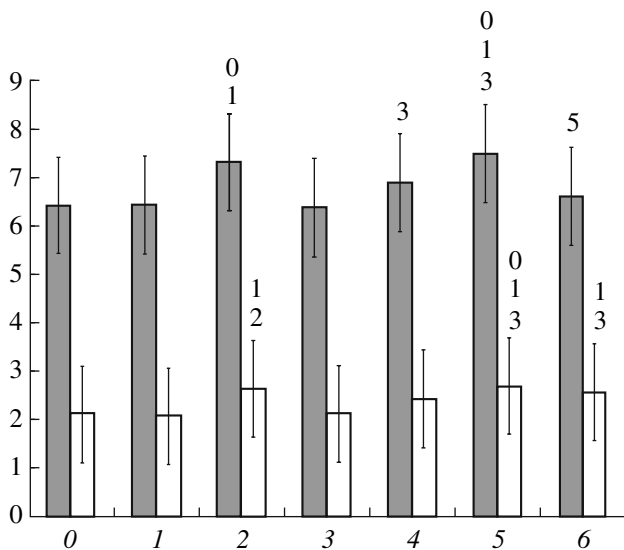


Рис. 2. Динамика содержания фосфатидилхолина (■) и фосфатидилэтаноламина (□) в процессе эмбрионального развития пресноводного лосося *Salmo salar* L.

зультате реацилирования ЛФХ с участием тиоэфиров КоА (Кеннеди, 1962; Карагезян и др., 1994). Такое соотношение между ЛФХ и ФХ отмечено нами на этапе пигментации глаз (рис. 3). В последнее время показано, что ЛФХ выполняет также регуляторные функции, оказывая модулирующий эффект на активность мембраносвязанных ферментов (Дятловицкая, Безуглов, 1998; Коломийцева и др., 2003). Установлено, что ЛФХ может образоваться в клеточных мембранах под воздействием наружных сигналов и быть одним из вторичных мессенджеров их передачи через рецепторы плазматической мембраны (Проказова и др., 1998; Кулагина и др., 2004), что особенно важно при выклеве личинки.

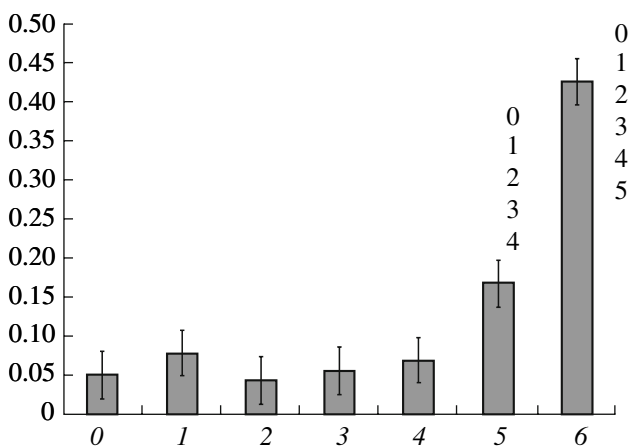


Рис. 3. Динамика содержания лизофосфатидилхолина в процессе эмбрионального развития пресноводного лосося *Salmo salar* L.

Третья фосфолипидная фракция по количественному содержанию в зрелой преднерестовой икре и в процессе ее развития – сфингомиелин (СФМ) – типичный фосфолипид плазматических мембран клеток, содержащий в основном насыщенные жирные кислоты. Падение уровня СФМ (в 1.6 раза) на стадии пигментации глаз по сравнению со стадиями начала пульсации сердца и кровообращения коррелирует со снижением концентрации ХС (в 1.9 раза), что может быть связано с гидролизом СФМ и освобождением ХС из мембран (рис. 4). Подобные изменения уровня СФМ показаны в развивающихся яйцах белого морского леща (*Diplodus sargus*) (Sejas et al., 2004). Уменьшение количества СФМ приводит к снижению микровязкости биомембран (Крепс, 1981). Установлено, что СФМ и его метаболиты являются медиаторами внеклеточных сигналов активации, через генетический аппарат регулируют синтез ХС, клеточный рост и процессы апоптоза (Алесенко и др., 2002; Коломийцева и др., 2003; Осадчая и др., 2004; Ипатова и др., 2006).

Фосфатидилсерин (ФС) и фосфатидилинозитол (ФИ) являются минорными ФЛ как в зрелой икре перед нерестом, так и в процессе ее эмбрионального развития. Наибольшие изменения содержания ФС (достоверно значимые при $p \leq 0.05$) отмечены после оплодотворения: на стадии образования бластодиска его уровень значительно снижается, а на этапе дробления бластодиска и особенно перед выклевом – повышается по сравнению с предшествующими стадиями развития (рис. 5). Накопление этих ненасыщенных ФЛ индуцирует активность мембранных ферментов, например комплекса Na, K-АТФазы, связанного с осморегуляцией, что имеет значение при смене среды обитания (Болдырев, 1985; Болдырев и др., 2006). Подобные изменения ФС согласуются с данными, полученными при изучении эмбрио-

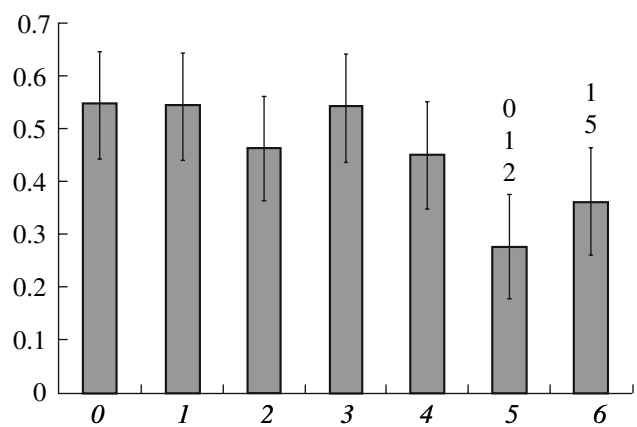


Рис. 4. Динамика содержания сфингомиелина в процессе эмбрионального развития пресноводного лосося *Salmo salar* L.

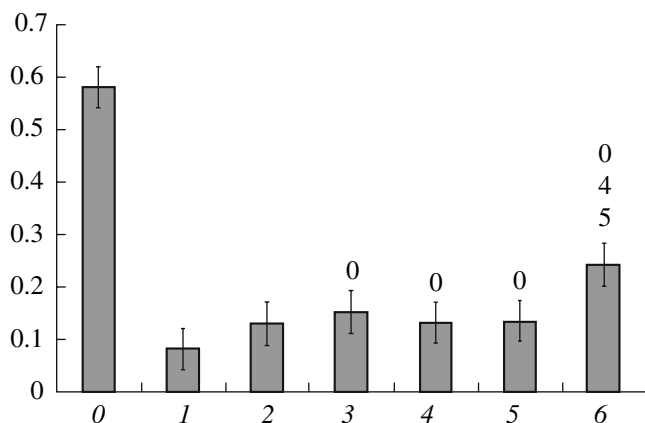


Рис. 5. Динамика содержания фосфатидилсерина в процессе эмбрионального развития пресноводного лосося *Salmo salar* L.

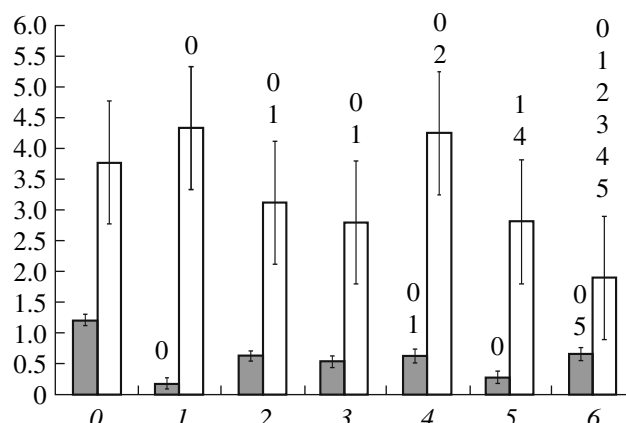


Рис. 6. Динамика содержания эфиров холестерина (■) и холестерина (□) в процессе эмбрионального развития пресноводного лосося *Salmo salar* L.

нального развития икры белого морского леща (Sejas et al., 2004). Установлено незначительное, но достоверное увеличение концентрации ФИ на этапах начала пульсации сердечной трубки и начала кровообращения, что, возможно, является реакцией клеток на внешние сигналы, влияющие на регуляцию внутриклеточного обмена кальция, в которых участвуют ФИ и его производные (Радченко и др., 2005).

ТАГ занимают второе место после суммарных ФЛ по количественному содержанию как в зрелой икре (7.4% от сухой массы), так и в процессе ее эмбрионального развития (8.6–10.0% от сухой массы). На этапах образования бластодиска и хвостовой почки установлено достоверное ($p \leq 0.05$) повышение уровня ТАГ, а на следующих этапах развития оно оставалось без изменения. На данных этапах происходит дифференцировка печени, образование печеночно-желточной системы кровообращения и синтез липопротеидов очень низкой плотности, содержащих ТАГ (Vernier, Sire, 1977). Относительно высокий уровень и даже некоторое повышение ТАГ может быть связано с использованием их в качестве основного энергетического источника в момент выклева и особенно после него. Личинки выклевываются ранней весной при низкой температуре, ограниченных пищевых возможностях и некоторое время малоактивны в поисках корма. Следует отметить, что в исследованиях, проведенных на выюне, показано, что на ранних этапах эмбриогенеза ТАГ вряд ли являются источником энергии, на что указывает преимущественное использование для этих целей гликолиза и низкое потребление кислорода (Мильман и др., 1977; Озернюк, 1985; Davenport, 1983).

В процессе эмбрионального развития лосося содержание ХС, одного из структурных липидов, варьирует. Так, на стадиях образования бластодиска и органогенеза (начало пульсации сердца и

начало кровообращения) отмечено повышение концентрации ХС, а на стадиях дробления, образования хвостовой почки, пигментации глаз и особенно перед выклевом – снижение. Выявленные изменения достоверно значимы ($p \leq 0.05$) (рис. 6). Повышение уровня ХС способствует стабилизации клеточных мембран, увеличивая их вязкость, уменьшает подвижность жирнокислотных остатков в молекулах ФС и может приводить к угнетению дыхания клеток (Алимова и др., 1975; Финагин, 1980; Степанов и др., 1991; Коломийцева и др., 2003). Изменение содержания ХС на отдельных стадиях эмбриогенеза может регулировать скорость ионной проницаемости биомембран для метаболитов, воды и кислорода (Зотин, 1961). ХС участвует и в регуляции деления клеток (Крепс, 1981; Стручков, Стражевская, 2000).

Микровязкость биомембран характеризуется также коэффициентом Дьердии – молярным соотношением ХС и ФЛ (ХС/ФЛ) (Лопухин и др., 1985). Повышенное значение этого показателя отмечено на стадиях образования бластодиска и начала пульсации сердца (0.44 и 0.40 соответственно), пониженное – на стадиях дробления, образования хвостовой почки, пигментации глаз (0.28, 0.26 и 0.25 соответственно) и особенно перед выклевом личинки (0.18), что коррелирует с изменением уровня ХС (рис. 7). Низкие значения коэффициента Дьердии указывают на уменьшение микровязкости биомембран и, соответственно, на усиление функциональной активности клеточных рецепторов и мембраносвязанных ферментов (Лопухин и др., 1985; Ещенко, 1999; Нетюхайло, Тарасенко, 2001).

ЭХС являются для организма запасной формой ХС и жирных кислот. В зрелой икре содержание ЭХС составляет 1.22% от сухого вещества. В процессе эмбрионального развития оно варьирует и намного ниже (от 0.19 до 0.66 % от сухого ве-

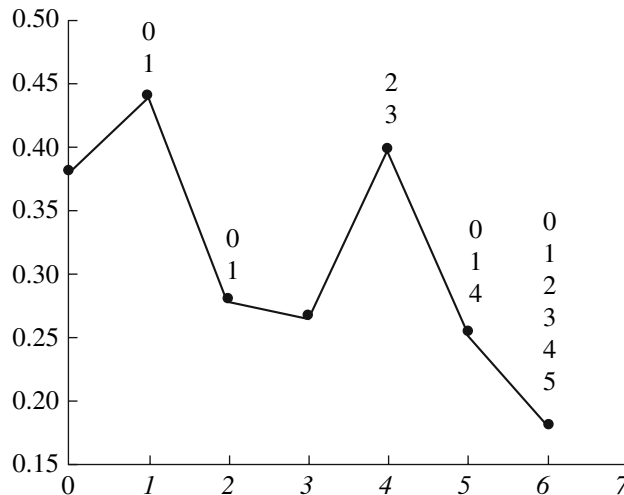


Рис. 7. Динамика изменения коэффициента Льерди (соотношения холестерина к фосфолипидам, по оси ординат) на разных стадиях эмбрионального развития (по оси абсцисс, см. рис. 1) пресноводного лосося *Salmo salar* L.

щества), чем в преднерестовой икре (достоверно при $p \leq 0.05$) (рис. 6). Известно, что при оплодотворении происходит разрушение кортикальных альвеол яиц, и их содержимое “выливается” в перевителлиновое пространство (Gwatkin et al., 1980). Кортикальные альвеолы яйцеклетки представляют собой специализированные лизосомальные структуры, в которых кислая холестеринэстераза расщепляет ЭХС на ХС и жирные кислоты (Браше, 1961; Ionescu et al., 1979). Жирные кислоты могут быть использованы зародышем для биосинтеза липидов, например ТАГ, а ХС как структурный компонент включается во вновь образующиеся мембраны делящихся клеток, что подтверждается увеличением ТАГ и ХС на этапе образования бластодиска.

Таким образом, показано, что липидный статус пресноводного лосося *Salmo salar* L. изменяется в процессе раннего развития по мере формирования зародыша. К началу нереста в яйцах лосося накапливается большой запас структурных и энергетических липидов, которые должны обеспечивать нормальное развитие зародыша. До оплодотворения в зрелом яйце метаболические процессы протекают на сравнительно низком уровне, а после него они активизируются, что отражается в изменении спектра общих липидов в развивающейся икре.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Алесенко А.В., Гальперин Э.И., Дудник Л.Б. и др. Роль фактора некроза опухоли альфа и активации сфингомиелинового цикла в индукции апоптоза в условиях ишемии / реперфузии печени // Биохимия. 2002. Т. 67. Вып. 12. С. 1632–1642.

Алимова Е.К., Аствацатурьян А.Т., Жаров А.В. Липиды и жирные кислоты в норме и при ряде патологических состояний. М.: Наука, 1975. 276 с.

Болгова О.М., Рунатти П.О., Сидоров В.С. Жирнокислотный спектр лосося *Salmo salar* на эмбрионально-личиночном этапе развития // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1985. Т. 21. № 2. С. 122–125.

Болдырев А.А. Биологические мембраны и транспорт ионов. М.: МГУ, 1985. 207 с.

Болдырев А.А., Кяйвярайнен Е.И., Илюха В.А. Мембранология. Петрозаводск: КНЦ РАН, 2006. 225 с.

Браше Ж. Биохимическая эмбриология. М.: Инстр. лит-ра, 1961. 327 с.

Гойда О.А., Кусень С.Й., Мукалов И.О. Исследование фосфолипидов в эмбриогенезе вьюна // Укр. биохим. журн. 1975. Т. 47. С. 370–373.

Грибанов Г.А. Особенности структуры и биологическая роль лизофосфолипидов // Вопр. мед. химии. 1991. Т. 37. № 4. С. 2–16.

Дятловицкая Э.В., Безуглов В.В. Липиды как биоэффекторы. Введение // Биохимия. 1998. Т. 63. Вып. 1. С. 3–5.

Ещенко Н.Д. Липидный состав и процесс ПОЛ в структурах зрительного тракта при адаптации к темноте // Матер. конф. “Механизмы структур функциональной и нейрохимической пластичности мозга”. М., 1999. С. 31–33.

Зотин А.И. Физиология водного обмена у зародышей рыб и круглоротых. М.: Изд-во “Наука” АН СССР, 1961. 316 с.

Ивантер Э.В., Коросов А.В. Введение в количественную биологию. Петрозаводск: ПетрГУ, 2003. 304 с.

Ипатов О.М., Торховская Т.И., Захарова Т.С. и др. Сфинголипиды и клеточная сигнализация: участие в апоптозе и атерогенезе // Биохимия. 2006. Т. 71. Вып. 7. С. 882–893.

Карагезян К.Г., Овсянян Л.М., Адоц К.Г. Влияние уринола на липидный метаболизм в ткани печени // Вопр. мед. химии. 1994. Т. 40. № 5. С. 25–27.

- Кеннеди Е.П. Биосинтез сложных липидов // Биосинтез липидов. М.: Изд-во "Наука" АН СССР, 1962. С. 105–127.
- Коломийцева И.К., Перепелкина Н.И., Патрушев И.В. и др. Роль липидов в сборке эндоплазматического ретикулума и диктиосом нейрональных клеток коры головного мозга якутского суслика *Citellus undulatus* при гибернации // Биохимия. 2003. Т. 68. Вып. 7. С. 954–967.
- Крепс Е.М. Липиды клеточных мембран. Эволюция липидов мозга. Адаптационная функция липидов. Л.: Наука, 1981. 339 с.
- Крыжановский С.Г. О значении жировых отложений в яйцах рыб // Зоол. журн. 1960. Т. 39. С. 111–123.
- Кулагина Т.П., Шевченко Н.А., Архипов В.И. Влияние судорожной активности на липиды гомогената, нейрональных и глиальных ядер коры головного мозга крыс // Биохимия. 2004. Т. 69. Вып. 10. С. 1404–1409.
- Лопухин Ю.М., Арчаков А.И., Владимиров Ю.А., Коган Э.М. Холестериноз. М.: Медицина, 1985. 350 с.
- Мильман Л.С., Юровицкий Ю.Г., Ермолаева Л.П. Контроль углеводного обмена на различных стадиях оогенеза // Современные проблемы оогенеза. М.: Наука, 1977. С. 249–264.
- Нетухоило Л.Г., Тарасенко Л.М. Особенности липидного состава плазматических мембран тканей легких при остром эмоционально-болевым стрессе у крыс // Укр. биохим. журн. 2001. Т. 73. № 1. С. 115–117.
- Нефедова З.А. Липидный статус лосося на ранних этапах онтогенеза: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петрозаводск: Карел. филиал АН СССР, 1989. 16 с.
- Новиков Г.Г. Рост и энергетика развития костистых рыб в раннем онтогенезе. М.: Эдиториал УРСС, 2000. 296 с.
- Озернюк Н.Д. Энергетический обмен в раннем онтогенезе рыб. М.: Наука, 1985. 173 с.
- Осадчая Л.М., Галкина О.В., Ещенко Н.Д. Влияние коразола на активность Na^+ , K^+ -АТФазы и интенсивность ПОЛ в нейронах и нейроглии // Биохимические и молекулярно-биологические основы физиологических функций. Вып. 37. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2004. С. 220–226.
- Проказова Н.В., Звездина Н.Д., Коротаяева А.А. Влияние лизофосфатидилхолина на передачу трансмембранного сигнала внутрь клетки // Биохимия. 1998. Т. 63. Вып. 1. С. 38–46.
- Радченко В.В., Меркулова М.И., Шуваева Т.М. и др. Функциональная экспрессия и свойства Sec 14 р-подобного белка с молекулярной массой 45 кДа из обонятельного эпителия крысы // Там же. 2005. Т. 70. Вып.12. С. 1631–1638.
- Рыжков Л.П., Крупень И.М. Пресноводный лосось Онежского озера. Петрозаводск: ПетрГУ, 2004. 152 с.
- Сидоров В.С. Экологическая биохимия рыб. Липиды. Л.: Наука, 1983. 240 с.
- Сидоров В.С., Лизенко Е.И., Болгова О.М., Нефедова З.А. Липиды рыб. 1. Методы анализа. Тканевая специфичность ряпушки *Coregonus albula* L. // Лососевые (Salmonidae) Карелии. Вып. 1. Петрозаводск: Карел. филиал АН СССР, 1972. С. 152–163.
- Степанов А.Е., Краснопольский Ю.М., Швец В.И. Физиологически активные липиды. М.: Наука, 1991. 136 с.
- Стручков В.А., Стражевская Н.Б. Структурные и функциональные аспекты ядерных липидов нормальных и опухолевых клеток // Биохимия. 2000. Т. 65. Вып. 5. С. 620–643.
- Финагин Л.К. Обмен холестерина и его регуляция. Киев: Наук. думка, 1980. 16 с.
- Шатуновский М.И. Экологические особенности обмена веществ морских рыб. М.: Наука, 1980а. 288 с.
- Шатуновский М.И. Экология размножения и развития. М.: Наука, 1980б. 283 с.
- Юровицкий Ю.Г. Отношения зародыша и желтка в развитии костистых рыб // Онтогенез. 1999. Т. 30. № 3. С. 205–209.
- Ando K. Change in fatty acids composition of acetone soluble lipids during development of rainbow trout eggs // Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 1962. V. 28. P. 34–343.
- Arduini A., Pescechera A., Dottoris S. et al. High performance liquid chromatography of long-chain acylcarnitine and phospholipids in fatty acid turnover studies // J. Lipid Res. 1996. V. 37. P.684–689.
- Boulekbach H. Energy metabolism in fish development // Amer. Zool. 1981. V. 21. P. 377–389.
- Cejas J.R., Almansa E., Jeres S. et al. Changes in lipid class and fatty acid composition during development in white seabream (*Diplodus sargus*) eggs and larvae // Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol. 2004. V. 139. P. 209–216.
- Davenport J. Oxygen and the developing eggs and larvae of the lumpfish, *Cyclopterus lumpus* // J. Mar. Biol. Ass. UK. 1983. V. 63. № 3. P. 633–640.
- Engelbrecht F.M., Mari F., Anderson J.T. Cholesterol determination in serum. A rapid direction method // S.A. Med. J. 1974. V. 48. № 7. P. 250–356.
- Folch J., Lees M., Sloan-Syanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue (for brain, liver and muscle) // J. Biol. Chem. 1957. V. 226. P. 497–509.
- Gwatkin R.B.L., Williams D.T., Hartmann J.F. et al. The zona reaction of hamster and mouse egg: production *in vitro* by a trypsin-like protease from cortical granules // J. Reprod. Fert. 1980. V. 32. P. 259–265.
- Haliloglu T., Kolinski A., Skolnick J. Use of NMR residual dipolar coupling (RDCs) as restraints in *ab initio* structure prediction // Biopolymers. 2003. V. 70. P. 548–562.
- Halver J.E. Lipids and fatty acids // Aquaculture development and coordination programme. Fish feed technology. Lectures presented at the FAO/UNDP training course in fish feed technology. Washington, 2000. 246 p.
- Ionescu V.M., Mester R., Scripcarin D. et al. Cytochemical localization and electrophoretical characterization of acid phosphatase in fish ovary // Rev. Roum. Biol. 1979. V. 24. № 2. P. 117–123.
- MacFarlane R.B., Norton E.C. Nutritional dynamics during embryonic development in the viviparous genus *Sebastes*

their application to the assessment of reproductive success // *Fish. Bull.* 1999. V. 97. P. 273–281.

Peng J., Larondelle Y., Pham D. et al. Polyunsaturated fatty acid profiles of whole body phospholipids and triacylglycerols in anadromous and landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry // *Comp. Biochem. Physiol.* 2003. V. B134. № 134. P. 335–348.

Tocher D.R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish // *Rew. Fish. Sci.* 2003. V. 11. № 2. P. 107–184.

Vernier J.M., Sire M.F. Lipoproteines de tres basse densite et glycogine dans le syncytium vitellin, le pithelium intestinal et le foie, aux stades precoces du developpement embryonnaire chez la truite Arcen-ciel // *Biol. Cell.* 1977. V. 29. № 1. P. 45–53.

Walch D.E., Banasik O.J., Gilles K.A. Thin-layer chromatographic separation and colorimetric analysis of barley or malt lipid classes and their fatty acids // *J. Chromatogr.* 1965. V. 17. № 2. P. 278–287.

Dynamics of Lipid Content during Early Development of Freshwater Salmon *Salmo salar* L.

S. A. Murzina, Z. A. Nefedova, T. R. Ruokolainen, O. B. Vasil'eva, and N. N. Nemova

Institute of Biology, Karelian Scientific Center, Russian Academy of Science, ul. Pushkinskaya 11, Petrozavodsk, 185910 Russia

e-mail: imagination@onego.ru

Abstract—Dynamics of lipid and phospholipid content was studied during early development of freshwater salmon *Salmo salar* L. from blastodisc formation (3 h) to hatching (108 days) as well as in eggs before fertilization. High and stable content of total lipids including structural phospholipids as well as relatively high content of triglycerides and its slight increase at the time of hatching have been demonstrated, which can indicate their utilization as the main energy source after hatching under conditions of deficient food and low fry activity for some time. Accumulation of a certain level of lipids in eggs before spawning is required for embryonic development and high survival after hatching. The significance of increasing and decreasing levels of structural lipids modulating membrane enzyme activities in metabolic changes before hatching is discussed.

Key words: freshwater salmon, embryogenesis, lipids, phospholipids, triglycerides.