

## ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ РАЗНЫХ ПОРЦИЙ ТЕКУЧЕЙ ИКРЫ АТЛАНТИЧЕСКОГО ЛОСОСЯ *SALMO SALAR* L.

З. А. Нефедова, С. А. Мурзина, Т. Р. Руоколайнен, П. О. Рипатти, Н. Н. Немова

Учреждение Российской академии наук  
Институт биологии Карельского научного центра РАН, г. Петрозаводск, Россия,  
e-mail: imagination@onego.ru

Одним из основных биохимических критериев зрелости икры и готовности ее к оплодотворению является содержание в ней липидов, а уровень и соотношение отдельных липидных фракций являются показателями жизнеспособности потомства (Крыжановский, 1960; Tocher, 2003). К началу нереста в яйцах лосося накапливается большой запас структурных и энергетических липидов, которые должны обеспечивать нормальное развитие зародыша и выживание личинок после выклева.

Проведена сравнительная оценка липидных спектров отдельных субпорций текучей икры из разных частей яичника – задней хвостовой (1), средней (2) и головной (3) у пресноводного лосося *Salmo salar*.

Методами тонкослойной, высокоэффективной жидкостной и газожидкостной хроматографии определяли концентрацию общих липидов, в том числе триацилглицеринов (ТАГ), холестерина (ХС), эфиров холестерина (ЭХС), фосфолипидов (ФЛ) и их отдельных фракций: фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилэтаноламина (ФЭА), фосфатидилсерина (ФС), а также жирных кислот (ЖК) общих липидов в разных порциях текучей икры лосося, индивидуально у каждой самки.

Образцы фиксировали 97% этиловым спиртом с добавлением 0,001% антиоксиданта ионола и тщательно измельчали, заливали смесью хлороформ–метанол (2 : 1) и хранили до анализа на холоде (+4 °С). Липиды экстрагировали по методу Фолча (Folch et al., 1957). Общие липиды разделяли на фракции (ФЛ, ТАГ, ХС, ЭХС) на тонкослойных хроматографических пластинках «Silufol» («Kavalier», Чехия) в смеси растворителей петролейный эфир–серный эфир–уксусная кислота (90:10:1). Количество ФЛ, ТАГ и ЭХС определяли гидроксаматным методом (Сидоров и др., 1972), холестерина – по реакции с окрашивающим реагентом (Engelbrecht et al.,

1974) и выражали в процентах от веса сухого вещества пробы.

Состав индивидуальных фосфолипидов (ФХ, ФЭА, ФС) анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на стальной колонке Nucleosil 100-7 («Элсико», Москва), используя элюент ацетонитрил–гексан–метанол–ортофосфорная кислота (918:30:30:17.5). Детектирование проводили по степени поглощения света при 206 нм (Arduini et al., 1996). Соотношение между компонентами оценивали по величинам площадей пиков на хроматограмме.

Содержание жирных кислот общих липидов в виде метиловых эфиров определяли методом газожидкостной хроматографии (Новак, 1978). Разделение проводили на хроматографах «Кристалл 5000» («Хроматек», Йошкар-Ола) с пламенно-ионизационным детектором в капиллярной колонке ZB-FFAP длиной 50 м (внутренний диаметр 0,32 мм, толщина слоя жидкой фазы 0,50 мкм).

Достоверность различий оценивали с помощью непараметрического критерия различий U – Уилкоксона-Манна-Уитни (Гублер, Генкин, 1969).

Установили, что уровень общих липидов в хвостовой (1) и средней (2) порциях текучей икры лосося практически одинаков и составлял 21,9% и 21,4% сухой массы, соответственно, а в головной (3) порции икры был несколько выше – 23,4% сухой массы за счет повышенного содержания структурных ФЛ (11,0% сухой массы) (рис. 1).

При этом доля ФЛ в хвостовой и средней порциях икры составляла 9,1% и 9,5% сухой массы, соответственно (рис. 1). Повышенный уровень ФЛ в головной порции текучей икры обусловлен большей долей в них ФХ, ФЭА, ФС по сравнению с таковыми в первых двух порциях икры (рис. 2). ФХ наряду с ФЭА составляет основную массу фосфолипидов не только в яйцах лосося, но и у других видов рыб (Cowey et al, 1985; Нефедова и др., 1994).

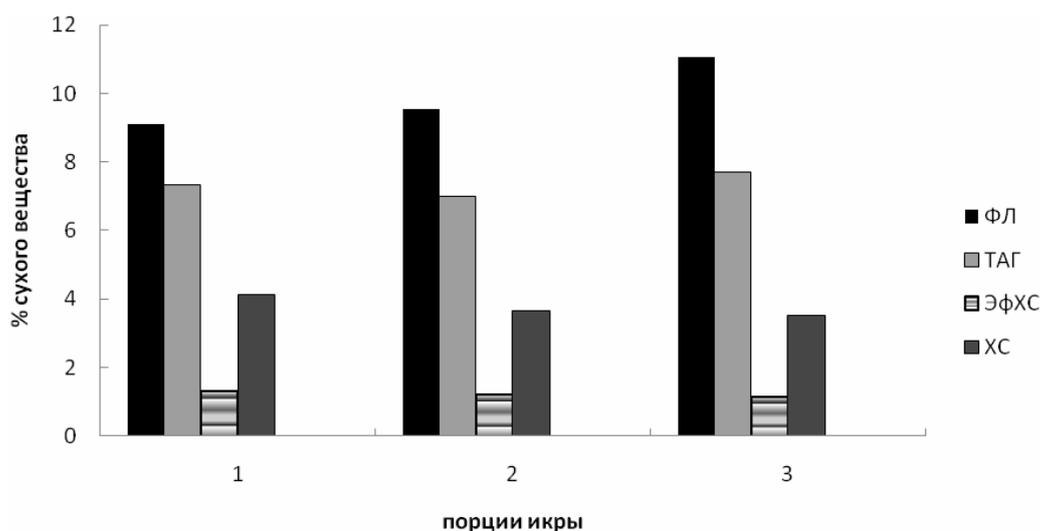


Рис. 1. Липидный состав (фосфолипиды (ФЛ), триацилглицерины (ТАГ), эфиры холестерина (ЭФХЛ), холестерин (ХЛ)) порций текучей икры пресноводного лосося *Salmo salar* L. (% сухого вещества).

Примечание: по оси абсцисс – порции икры: 1 – хвостовая, 2 – средняя, 3 – головная; по оси ординат – % сухого вещества.

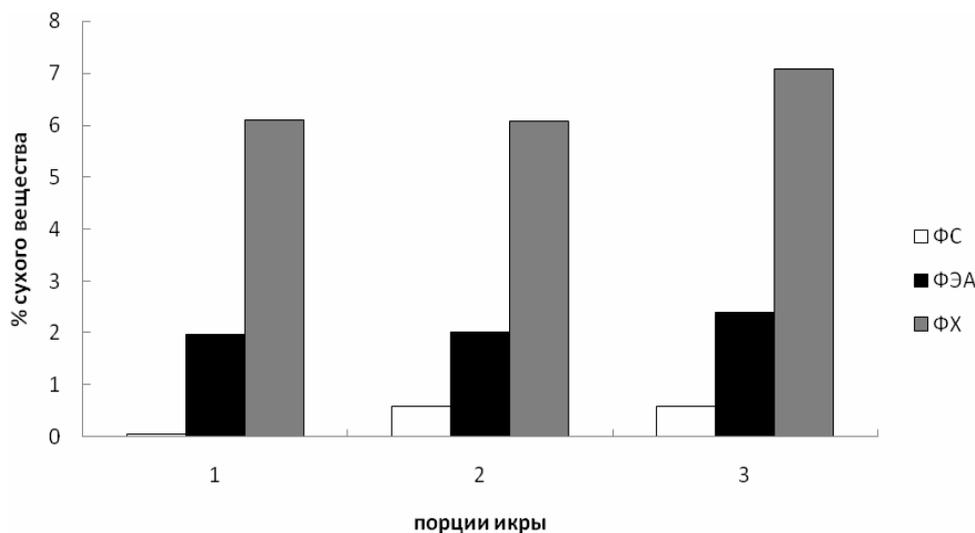


Рис. 2. Состав отдельных фосфолипидов (Фосфатидилсерин (ФС), фосфатидилэтанолламин (ФЭА), фосфатидилхолин (ФХ)) порций текучей икры пресноводного лосося *Salmo salar* L. (% сухого вещества).

Примечание: по оси абсцисс – порции икры: 1 – хвостовая, 2 – средняя, 3 – головная; по оси ординат – % сухого вещества.

Известно, что значительное количество ФХ связано со специфическим белком яиц – липовителлином, который под действием половых гормонов синтезируется в печени рыб, транспортируется кровью в ооциты и откладывается в желтке. В небольших количествах этот белок синтезируется в самих ооцитах (Айзенштадт, 1977). Липовителлин является основным резервным веществом яиц рыб, обеспечивающим энергетическими и структурными компонентами развивающиеся эмбрионы, а также личинки после выклева до перехода их на внешнее питание. Показано, что близкие по своей химической природе глицерофосфо-

липиды ФХ, ФЭА и ФС метаболически связаны, и между ними возможны различные взаимопревращения. Так, при распаде ФХ специфический компонент холин служит одним из источников лабильных метильных групп, участвующих в синтезе фосфолипидов, что важно для развивающегося зародыша лосося с длительным эмбриональным периодом развития. Кроме того, ФХ может быть использован в процессе эмбриогенеза и как энергетическое вещество (Cowey et al., 1985; Sejas et al., 2004). ФХ, ФЭА и ФС являются структурными компонентами биомембран и специфическими активаторами ряда мембраносвязанных ферментов

животных организмов (Тюрин и др., 1996; Коломийцева и др., 2003). В головной порции (3) текучей икры лосося содержание запасных ТАГ (рис. 1), а также показатель ФЛ/ТАГ были выше по сравнению с таковыми двух предыдущих порций (1 и 2) (рис. 3). При этом, хвостовая порция икры отличалась повышенным уровнем структурных липидов – ХС и его запасной формы ЭХС, а также показателем ХС/ФЛ (рис. 3).

Анализ жирнокислотного состава общих липидов отдельных субпорций текучей икры лосо-

ся показал значительную долю в них ПНЖК (от 47,6% до 51,2% суммы ЖК), основными из которых были докозагексаеновая 22:6(n-3) (от 12,65% до 14,1% суммы ЖК) и эйкозапентаеновая 20:5(n-3) (от 7,7 до 8,4% суммы ЖК) (табл.). В яйцеклетках головной части (3) гонад по сравнению с другими субпорциями выявлен наибольший уровень данных ПНЖК, а также 20:4(n-6) и пониженная доля насыщенных (14:0, 16:0 и 18:0) и моноеновых (18:1(n-9) и 16:1(n-7)) ЖК (табл.).

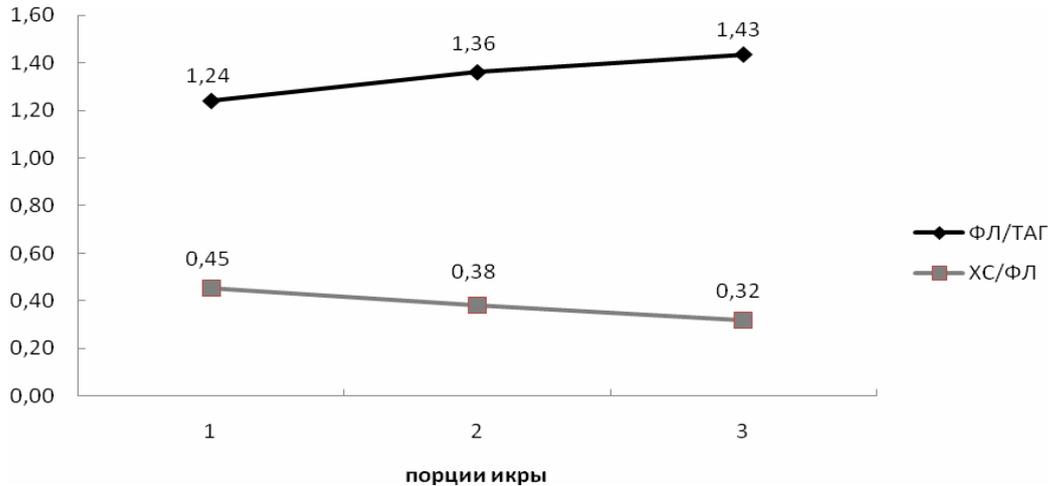


Рис. 3. Показатель ФЛ/ТАГ и ХС/ФЛ порций текучей икры пресноводного лосося *Salmo salar* L.

Примечание: по оси абсцисс – порции икры: 1 – хвостовая, 2 – средняя, 3 – головная.

#### Жирнокислотный состав порций текучей икры пресноводного лосося *Salmo salar* L. (% суммы ЖК)

Порции икры/ЖК	14:00	16:00	18:00	16:1(n-7)	18:1(n-9)	20:4(n-6)	20:5(n-3)	22:6(n-3)
1	1,43	12,95	6,16	7,57	15,92	5,89	7,84	12,87
2	1,4	12,97	6,14	7,21	15,94	5,84	7,74	12,65
3	1,07	11,89	6,09	6,75	15,17	6,16	8,39	14,06

Итак, данное исследование разных субпорций текучей икры (хвостовой-1, средней-2 и головной-3) у одних и тех же самок лосося показало в головной (3) порции более высокий уровень общих липидов, за счет структурных ФЛ (фракции ФХ, ФЭА, ФС), запасных ТАГ, показателя ФЛ/ТАГ, 20:5(n-3), 22:6(n-3) и 20:4(n-6) ПНЖК, но пониженную долю ХС, его запасной формы ЭХС и показателя ХС/ФЛ.

Исследования липидного спектра гонад самок бестера (гибрид белуги и стерляди) выявили прямую зависимость оплодотворяемости икры от уровня ФЛ, показателей ФЛ/ТАГ и ХС/ФЛ. (Абросимова и др., 1999). Более высокая оплодотворяемость отмечена для икры с повышенным содержанием ФЛ, ПНЖК (n-3) семейства, показателями ФЛ/ТАГ, (n-3)/(n-6) и низким уровнем ПНЖК (n-6) семейства и показателя ХС/ФЛ. Ав-

торы заключают, что обнаруженные различия в липидном спектре могут быть причиной незавершенных процессов созревания икры в определенных участках гонад одной самки.

Разновременность созревания икры из разных частей яичника у одних и тех же самок осетровых рыб не только бесспорно установлена, но и приобрела практическое значение в осетроводстве (Жукинский, 1981). Опыт разведения дальневосточных растительноядных рыб – белого амура и белого толстолобика показал, что икра хорошего качества бывает только в первой (хвостовой) и второй (средней) субпорциях (Вовк, 1976). Асинхронность созревания икры в яичниках одних и тех же самок установлена и для других видов рыб: сельдевых, карповых, окуневых, кефалевых, камбаловых и лососевых (кета, горбуша, радужная форель и т.д.) (Жукинский, 1981).

Выявленная разнокачественность по липидному статусу отдельных порций текущей икры лосося *Salmo salar* свидетельствует об асинхронности процессов ее созревания в разных частях гонад, что может отразиться на способности оплодотворяться, росте и развитии зародыша, а также дальнейшей дифференциации молоди.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 08-04-01140-а, РФФИ 08-04-01691-а, Программы Президента РФ «Ведущие научные школы НШ- 3731.2010.4.

## Литература

Абросимова Н. А., Бирюкова А. А., Марадуда А. Ю. 1999. Зависимость оплодотворяемости икры бестера от ее биохимического состава // Тез. докл. 1-й научно-практич. конф. «Проблемы соврем. товарного осетроводства». Астрахань. 24 марта 1999. С. 102–103.

Айзенштадт Т. Б. 1977. Рост ооцитов и вителлогенез // Современные проблемы оогенеза. М. С. 5–15.

Вовк П. С. 1976. Биология дальневосточных растительноядных рыб и их хозяйственное использование в водоемах Украины. Киев: Наук. думка. 248 с.

Жукинский В. Н. 1981. Субпорционность созревания, перезревания и выметывания икры у рыб в связи с исследованием ее разнокачественности. // Разнокачественность онтогенеза у рыб. Киев: Наук. думка. С. 7–36.

Коломийцева И. К., Перепелкина Н. И., Патрушев И. В., Попов В. И. 2003. Роль липидов в сборке эндоплазматического ретикулума и диктиосом нейрональных клеток коры головного мозга якутского суслика *Citellus undulates* при гибернации // Биохимия. Т. 68. Вып. 7. С. 954–967.

Крыжановский С. Г. 1960. О значении жировых отложений в яйцах рыб. // Зоол. журн. Т. 39. С. 111–123.

Нефедова З. А., Сидоров В. С., Юровицкий Ю. Г. 1994. Липидный состав зрелых яиц костистых рыб // Онтогенез. Т. 25. С. 53–59.

Новак И., 1978. Количественный анализ методом газовой хроматографии. М.: Мир. 180 с.

Сидоров В. С., Лизенко Е. И., Болгова О. М., Нефедова З. А. 1972. Липиды рыб. 1. Методы анализа. Тка-

невая специфичность ряпушки *Coregonus albula* L. // Лососевые (*Salmonidae*) Карелии. Петрозаводск: Карел. Фил. АН СССР. Вып. 1. С. 152–163.

Тюрин В. А., Ардуини Ю. Ю. 1996. Репарация липидного бислоя мембран при окислительном стрессе: реакцирование фосфатидилэтаноламина в мембранах синапсом, фоторецепторов и эритроцитов // Журн. эволюц. биохим. физиол. Т. 32. № 3. С. 248–255.

Arduini A., Peschechera A., Dottoris S. et al. 1996. High performance liquid chromatography of long-chain acylcarnitine and phospholipids in fatty acid turnover studies // J. Lipid Res. V. 37. P. 684–689.

Cejas J. R. 2004. 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. V. 139. P. 209–216.

Cowey C.B., Bell J.G., Knox D. et al. 1985. Lipids and lipid antioxidant systems in developing eggs of salmon (*Salmo salar*) // Lipids. V. 20. № 9. P. 567–572.

Engelbrecht F.M., Mari F., Anderson J.T. 1974. Cholesterol determination in serum. A rapid direction method // S.A. Med. J. V. 48. № 7. P. 250–356.

Folch J., Lees M., Sloan-Syanley G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue (for brain, liver and muscle). // J. Biol. Chem. V. 226. P. 497–509.

Tocher D. R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish // Reviews in fisheries science. V. 11(2). P. 107–184.

## LIPID SPECTRUM OF DIFFERENT UNFERTILIZED EGG PORTIONS OF *SALMO SALAR* L.

Z.A. Nefedova, S.A. Murzina, T.R. Ruokolainen, P.O. Ripatti, N.N. Nemova

Institute of biology, Karelian Research Centre RAS, Russia, Petrozavodsk  
e-mail: imagination@onego.ru

The comparative study of total lipid spectrum and individual phospholipids in three portions of unfertilized eggs from individual females of *Salmo salar* L. during spawning was made using TLC and HPLC methods. The significant differences in amount of total lipids and levels of neutral and polar lipid classes in portions of unfertilized eggs were determined which might show lipid spectrum

distinction of early, middle and late portions of spawn eggs. The established lipid spectrum of eggs might affect on a life strategy and survival rate of larvae *Salmo salar* L. in nature. We discussed importance of results in light of contemporary view on biochemical supposition in formation of different phenotype groups of *Salmo salar* L. larvae.