

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ИОНОЛА НА ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ СЕГОЛЕТОК РУССКОГО ОСЕТРА

© 2010 И.М. Чернушкина¹, Н.А. Антонова¹, Н.О. Мовчан², В.П. Осипова²,
М.Н. Коляда², Ю.Т. Пименов¹

¹ Астраханский государственный технический университет

² Южный научный центр РАН, г. Ростов-на-Дону

Поступила в редакцию 03.05.2010

Исследованы антиоксидантные свойства пара-замещенных фосфорсодержащих производных ионола *in vitro* и *in vivo* в сравнении с аналогом витамина Е – тролоксом. Установлено, что добавка в корм гидробионтов исследуемых соединений приводит к увеличению скорости роста, снижению уровня накопления конечных продуктов пероксидного окисления липидов печени, мембран эритроцитов крови, повышению активности каталазы гемолизата эритроцитов крови.

Ключевые слова: *русский осетр, пероксидное окисление липидов, каталаза, антиоксиданты*

В настоящее время широко развивается прудовое и садково-бассейновое хозяйства по разведению рыбы, что объясняется ухудшением экологической обстановки и снижением уровня вылова рыбы в естественных условиях. Одной из главных проблем Каспийского региона является сохранение популяции осетровых рыб, которые относятся к реликтовым видам гидробионтов и являются ценным пищевым продуктом. Запасы осетровых в Каспийском море находятся в критическом состоянии, поэтому пополнение стада осуществляется, в основном, за счет искусственного заводского разведения. В связи с этим, вопрос обеспеченности молоди рыб качественными кормами продолжает оставаться актуальным. Рыбная мука, используемая для приготовления стартовых кормов, содержит высокий процент жира и вследствие этого при хранении подвергается окислительной порче, при этом образуются токсичные продукты, отрицательно влияющие на рост рыб [1, 2]. С целью предотвращения окисления

жиров и других легко окисляющихся компонентов корма (каротин, ксантофилл и др.) при производстве рыбного комбикорма добавляются как природные (витамин Е), так и синтетические соединения, обладающие антиоксидантными свойствами. В качестве подобных соединений могут выступать пространственно-затрудненные фосфиты, которые имея в своем составе функциональные группы различной химической природы, обладают множественным механизмом ингибирования окислительного процесса, а, следовательно, большей эффективностью антиоксидантного действия.

Цель данного исследования - изучение влияния добавок пара-замещенных фосфорсодержащих производных ионола (I-V) на рыбоводно-биологические и биохимические показатели молоди осетровых рыб *in vitro* и *in vivo* в сравнении с аналогом витамина Е – тролоксом.

В качестве биохимических показателей гидробионтов исследовали скорость пероксидного окисления липидов (ПОЛ) печени, мембран эритроцитов крови, активность каталазы гемолизата эритроцитов крови.

Материал и методы исследования. Исследование выполнено в лаборатории ЮНЦ РАН «Химия и токсикология экосистем Каспия». Материалом для исследования *in vivo* послужили сеголетки русского осетра (*Acipenser gueldenstadtii* Brandt), выращенные в Научно-производственном центре по осетроводству БИОС. Молодь массой 60-70 г сажали в аквариумы, оснащенные системами

Чернушкина Ирина Михайловна, аспирантка. E-mail: berberova@astu.org

Антонова Наталья Александровна, аспирантка Мовчан Наталья Олеговна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

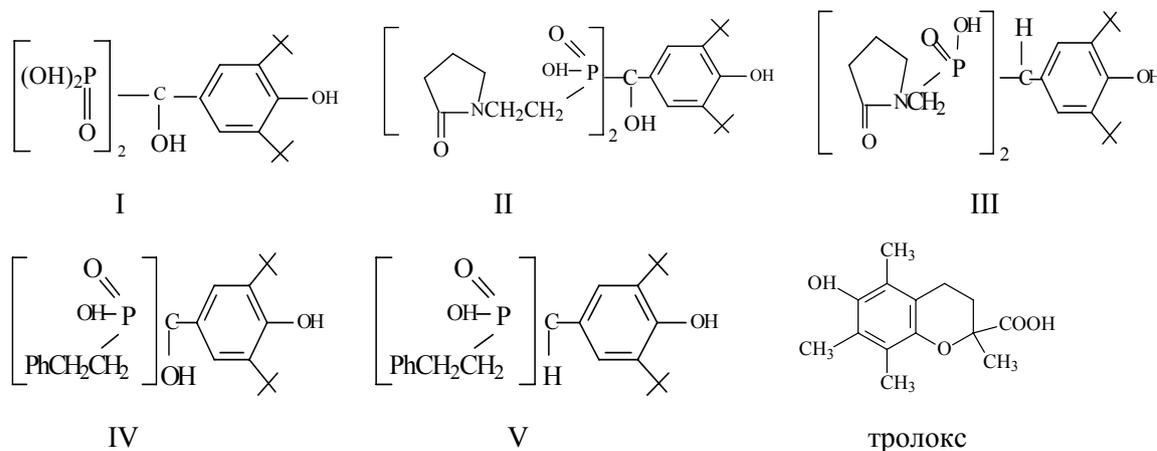
Коляда Маргарита Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Осипова Виктория Павловна, кандидат химических наук, доцент, заведующая лабораторией химии и токсикологии экосистем. E-mail vposipova@rambler.ru

Пименов Юрий Тимофеевич, доктор химических наук, профессор, ректор

фльтрации и аэрации воды, объемом 250 л по 10-12 особей. Для кормления молоди использовали сухой гранулированный рыбный комбикорм Aller Sturgeon (размер гранул 2 мм) без добавок и с добавками исследуемых соединений в концентрации 150 мг/кг. Расчет нормы кормления производили, исходя из массы тела и температуры воды, по специально разработанным кормовым таблицам [3]. Кормление проводили 2 раза в сутки вручную, размер крупки соответствовал массе рыб. При проведении исследования руководствовались правилами работ с использованием экспериментальных животных [4]. Гидрохимические показатели воды за период проведения эксперимента находились в норме. Период выращивания молоди составил 30 суток. Результаты выращивания оценивали по

скорости роста и выживаемости гидробионтов. Среднесуточную скорость роста вычисляли по формуле сложных процентов [5]. О скорости ПОЛ судили по накоплению конечных продуктов окисления, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активных продуктов). В качестве кинетических параметров ПОЛ определяли: скорость спонтанного (ферментативного) пероксидного окисления липидов (СпПОЛ), скорость неферментативного аскорбатзависимого пероксидного окисления липидов (АсПОЛ) и исходный уровень ТБК-активных продуктов, используя стандартную методику [6]. Гемолизат эритроцитов крови готовили общепринятым методом [7]. Активность каталазы отмытых эритроцитов крови определяли по скорости разложения пероксида водорода [8].



Вначале были проведены опыты по влиянию добавок соединений (I-V) и тролокса на накопления ТБК-активных продуктов в гомогенате печени русского осетра *in vitro* в условиях длительно протекающего окисления (48 часов). Результаты опыта представлены на рис. 1. При добавлении соединений I-III и тролокса происходит уменьшение накопления продуктов ПОЛ в сравнении с контролем на всех этапах исследования. Соединение IV обладает незначительным промотирующим действием, при добавке соединения V содержание ТБК-активных продуктов закономерно увеличивается со временем и сопоставимо с контролем. При добавке тролокса наблюдается закономерное снижение уровня накопления ТБК-активных продуктов на всех этапах ПОЛ. Следует отметить большую антиоксидантную активность (АОА) по сравнению с тролоксом для фосфорсодержащих фенолов I-III и V, на начальном этапе ПОЛ (1 час). По мере протекания окислительного процесса АОА тролокса возрастает, в отличие от исследуемых производных фенола.

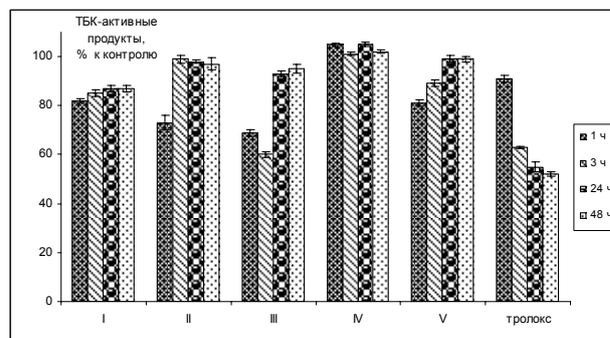


Рис. 1. Изменение скорости накопления ТБК-активных продуктов в гомогенате печени русского осетра *in vitro* в присутствии исследуемых соединений

Исходя из полученных результатов исследования *in vitro*, для дальнейшего определения влияния добавок производных фенола на рыбоводно-биологические и биохимические показатели молоди русского осетра были отобраны соединения I-III и тролокс. На протяжении опыта молодь активно поедала корм, изменений в поведении

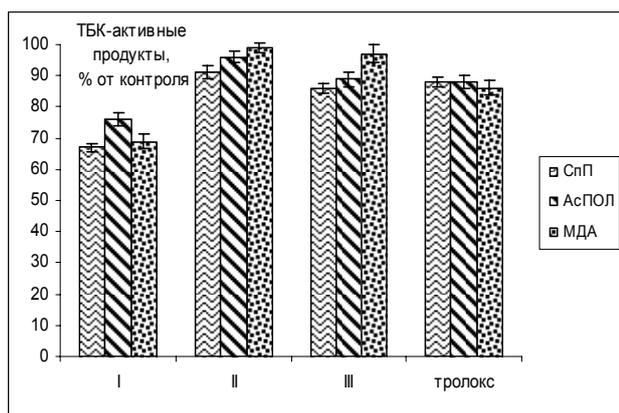
рыб не отмечалось, выживаемость осетровых составила 100%. При кормлении рыб с добавкой соединения II прирост по массе сопоставим с контролем, при добавке соединений I, III и тролокса наблюдается больший

прирост в сравнении с контролем (таблица). Наибольший абсолютный прирост и среднесуточная скорость роста установлены при добавке в рыбный корм соединения I.

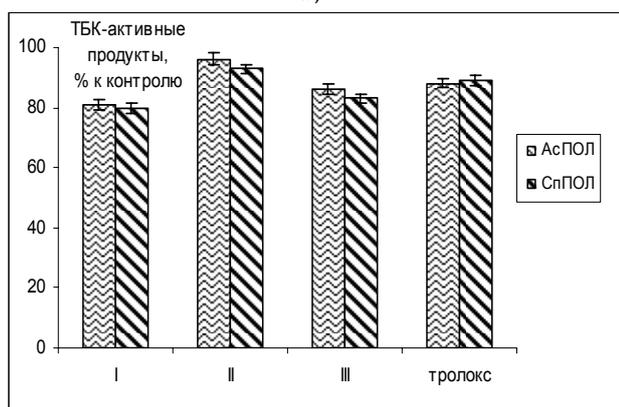
Таблица. Рыбоводно-биологические показатели выращивания молоди осетра при добавлении в корм антиоксидантов

Показатель	Контроль	I	II	III	Тролокс
абсолютный прирост, г	6,4±0,51	8,8±0,95	6,37±0,86	7,8±0,49	6,9±0,65
среднесуточная скорость роста, %	0,466	0,609	0,437	0,547	0,504

Исследование биохимических показателей молоди русского осетра, употребляющей рыбный корм с добавками соединений I, III и тролокса показало уменьшение определяемых кинетических параметров ПОЛ в гомогенатах печени (рис. 2а) и мембранах эритроцитов крови (рис. 2б).



а)



б)

Рис. 2. Влияние добавок исследуемых соединений на уровень накопления ТБК-активных продуктов *in vivo*: а) гомогенат печени; б) гемолизат эритроцитов крови

В случае добавки фосфорсодержащих фенолов в наибольшей степени снижается

скорость SpПОЛ. При добавлении антиоксиданта I наблюдается уменьшение параметров ПОЛ в гомогенате печени и мембранах эритроцитов крови на 30% и 20% соответственно в сравнении с контролем.

Одним из компонентов ферментативного звена антиоксидантной защиты организма является фермент каталаза, который защищает биологические системы, в частности эритроциты крови от повреждения, разрушая перекись водорода. В исследовании установлено, что при введении в корма соединений I и тролокса наблюдалось повышение активности каталазы гемолизата эритроцитов крови на 7% и 5%, соответственно, в сравнении с контролем (рис. 3). Увеличение скорости разложения перекиси водорода каталазой отмытых эритроцитов может свидетельствовать об активации системы антиоксидантной защиты у молоди русского осетра, что способствует повышению резистентности осетровых рыб в стрессовых ситуациях. Добавка соединений II и III вызывает снижение активности фермента.

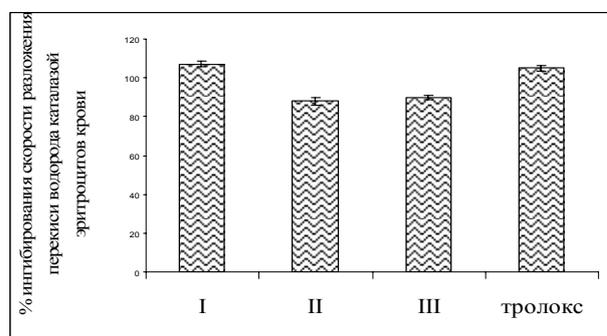


Рис. 3. Влияние добавок исследуемых соединений на скорость разложения перекиси водорода каталазой отмытых эритроцитов крови русского осетра *in vivo*

Выводы: результаты проведенного исследования выявили, что добавки определенных пара-замещенных фосфорсодержащих производных ионола приводят к уменьшению показателей скорости ПОЛ (*in vitro* и *in vivo*) и увеличению активности каталазы крови (*in vivo*). Наибольшая эффективность установлена для соединения I в рыбном корме по сравнению с тролоксом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Сляров, В.Я. Справочник по кормлению рыб / В.Я. Сляров, Е.А. Гамыгин, Л.П. Рыжков. – М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1984. – 120 с.
2. Остроумова, И.Н. Физиолого-биохимическая оценка состояния рыб при искусственном разведении // Современные вопросы экол. физиологии рыб. – М.: Наука, 1979. – С. 59-67.
3. Пономарев, С.В. Технологии выращивания и кормления объектов аквакультуры юга России / С.В. Пономарев, Е.А. Гамыгин, С.И. Никоноров и др. – Астрахань: Изд-во «Новая плюс», 2002. – 254 с.
4. Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных. Приказ Министерства здравоохранения СССР от 12 августа 1977 г. №755.
5. Castell, J.D. Report of the EIFAC, IUNS and ICES Working Group on the standardization of the methodology in fish research. Hamburg (Federal Republic of Germany), march 21-23, 1979 / J.D. Castell, K. Tiews // EIFAC Tech. Pap. – 1979. – V. 36. – P. 1-24.
6. Строев, Е.Н. Практикум по биологической химии / Е.Н. Строев, В.Г. Макарова. – М.: Высш. Шк., 1986. – 279 с.
7. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования под общей ред. Проф. Е.А. Косм. – М.: Изд-во «Медицина», 1975. – С. 384.
8. Beers, R.F. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase / R.F. Beers, Jr. and I.W. Sizer // J. Biol. Chem. – 1952. – V.195. – P. 133-140.

INFLUENCE OF IONOLE DERIVATIVES ON THE BASIC PARAMETERS OF LIFE ACTIVITY OF RUSSIAN STURGEONS THIS YEAR'S BROOD

© 2010 I.M. Chernushkina¹, N.A. Antonova¹, N.O. Movchan², V.P. Osipova², M.N. Kolyada², Yu.T. Pimenov¹

¹ Astrakhan State Technical University

² South Scientific Centre of RAS, Rostov-On-Don

Are researched antioxidant properties of pair-replaced phosphorus contain ionole derivatives *in vitro* and *in vivo* in comparison with analogue of vitamin E - trolox. It is established, that the additive in feedstuff of aquatic organisms of researched compounds leads to increase in growth rate, level recession of accumulation the end products of lipids peroxidase oxidation in liver, membranes of blood erythrocytes, increase the catalase activity of blood erythrocytes hemolysate.

Key words: *russian sturgeon, lipids peroxidase oxidation, catalase, antioxidants*

Irina Chernushkina, Post-graduate Student. E-mail: berberova@astu.org

Nataliya Antonova, Post-graduate Student

Nataliya Movchan, Candidate of Biology, Senior Research Fellow

Margarita Kolyada, Candidate of Biology, Senior Research Fellow

Viktoriya Osipova, Candidate of Chemistry, Associate Professor, Chief of the Chemistry and Toxicology of Ecosystems Laboratory.

E-mail: vposipova@rambler.ru

Yuriy Pimenov, Doctor of Chemistry, Professor, Rector