

ВПЛИВ ПЕКАРСЬКИХ ДРІЖДЖІВ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ОКИСНИХ ПРОЦЕСІВ У М'ЯЗАХ МОЛОДІ РОСІЙСЬКОГО ОСЕТРА (*ACIPENSER GULDENSTAEDTII*)

М. Ю. Симон¹, аспірант

Інститут рибного господарства НААН,
вул. Обухівська, 135, м. Київ-164, 03164, Україна

*У статті подані результати досліджень впливу інактивованих пекарських дріжджів, у якості кормової добавки в складі стартового корму для молоді російського осетра (*Acipenser guldenstaedtii*), на інтенсивність окисних процесів в його організмі.*

У роботі проаналізовано вплив інактивованих пекарських дріжджів на процеси пероксидного окиснення ліпідів. Для проведення досліджень була використана активність ензимів системи антиоксидантного захисту (каталази та супероксиддисмутази) та рівень накопичення продуктів пероксидного окиснення ліпідів (дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду) у м'язах молоді російського осетра.

У результаті проведених досліджень було виявлено, що дріжджі хоча і викликають незначний оксидативний стрес, в цілому позитивно впливають на антиоксидантну систему організму молоді російського осетра.

Для досягнення позитивного рибницького ефекту від її вирощування в склад базового осетрового корму варто додавати інактивовані пекарські дріжджі в кількості – 15% від раціону протягом 7 днів від початку переходу на екзогенне живлення.

Ключові слова: РОСІЙСЬКИЙ ОСЕТЕР (*ACIPENSER GULDENSTAEDTII*), ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ, МОЛОДЬ РИБ, СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ, ПЕРОКСИДНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ, ГОДІВЛЯ, КОРМОВІ ДОБАВКИ, ІНАКТИВОВАНІ ПЕКАРСЬКІ ДРІЖДЖІ.

Підвищення ефективності відтворення осетрових видів риб пов'язано із зниженням смертності на ранніх етапах онтогенезу і отримання життєстійкої молоді. Одним з вирішальних факторів для виживання молоді є забезпеченість її їжею у личинковий період. Для осетрів особливо важливим є момент переходу із змішаного, включаючи жовткове, на активне живлення. У російського осетра (*Acipenser guldenstaedtii*) воно настає, залежно від температури, на 7 – 10 день. У цей період онтогенезу відбуваються морфологічні та фізіолого-біохімічні зміни в травній системі осетра, що вимагає підбору спектру харчових об'єктів з відповідним хімічним складом. На сьогодні не достатньо інформації відносно використання інактивованих пекарських дріжджів у якості кормової добавки в складі стартового корму для молоді російського осетра. Тому дослідження з визначення доз та ефектів використання пекарських дріжджів з метою підвищення життєздатності осетрових видів риб є доцільним та актуальним.

Проблема вирощування фізіологічно повноцінної життєздатної молоді осетрових видів риб в індустріальній аквакультурі, незважаючи на численні наукові розробки, залишається актуальною. Це, в першу чергу, обумовлено її специфікою, коли об'єкти культивуються у вкрай відмінних від природних умовах. Внаслідок цього вони піддаються стресам різної етіології, що негативно впливають на їх фізіологічний стан та, відповідно, здоров'я. Більшість дослідників підкреслюють, що за різних патологій трофічного, інфекційного або токсичного

¹Науковий керівник – І. І. Грициняк, д. с-г. н., професор, академік НААН

характеру у осетрових видів риб активуються процеси вільнорадикального окиснення, зокрема пероксидного окиснення ліпідів. Найчастіше подібні процеси супроводжуються порушеннями, що перевищують можливості захисної антиоксидантної системи і клітини не витримують атаки вільних радикалів, починають накопичувати продукти окисної деградації ліпідів [1]. Актуальність досліджень процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) пояснюється двома його особливостями: здатності до утворення великої кількості надзвичайно реакційно-здатних вільних радикалів, які справляють руйнівну дію на біологічні структури та здатністю до неконтрольованого розвитку за типом ланцюгової реакції [2]. Втім, у нормальних умовах процеси ПОЛ протікають в живих системах збалансовано, в суворо визначених межах – сприяючи внутрішньоклітинному травленню, фагоцитозу, окисній деструкції чужорідних та шкідливих речовин або застарілих мембранних структур. Його активація є універсальною відповіддю на будь-який стрес як фізіологічної, так і патологічної природи [3]. Він є важливим компонентом «пускового механізму» перебудови метаболізму в несприятливих умовах [4]. Продукти ПОЛ (дієнові кон'югати, дієнкетони, малоновий діальдегід та ін.) – сполуки з неоднозначним впливом на організм риб. Зокрема, за певної концентрації вони здатні викликати зупинку росту та токсикози риб. Наприклад, пероксиди, що виникають в процесі самоокиснення жирів, є сильними окиснювальними сполуками, які викликають деструкцію жиророзчинних вітамінів (β -каротину, А, Е, К) [5]. У той же час, через стадію пероксидних похідних ПНЖК здійснюється біосинтез простагландинів (Pg) і лейкотрієнів, а тромбокساني (ТХА), які справляють потужний вплив на адгезивно-агрегаційну властивість формених елементів крові та її мікроциркуляцію, самі є гідропероксидами. Також, утворення гідропероксидів холестерину ($C_{27}H_{46}O$) є важливою ланкою в синтезі деяких стероїдних гормонів, зокрема, прогестерону ($C_{21}H_{30}O_2$) [6]. З позитивних функцій продуктів ПОЛ також варто зазначити їх участь у проведенні нервового імпульсу та регуляції поділу клітин [7]. Для з'ясування кінетики накопичення кінцевих продуктів ПОЛ важливо встановити співвідношення швидкості їх утворення зі швидкістю їх знешкодження САЗ [8, 9]. З 90-х років ХХ століття прийнято вважати продукти ПОЛ первинними і вторинними медіаторами оксидативного стресу, оскільки інтенсифікація ПОЛ мобілізує стрес-реалізуючі системи і підвищує антиоксидантний потенціал клітин. Виснаження цього потенціалу свідчить про вторинний спалах інтенсивності процесів ПОЛ. Первинна інтенсивність процесів ПОЛ відповідає першій фазі стресу (тривога), посилення відповіді системи антиоксидантного захисту (САЗ) – другій (резистентність), а вторинний спалах інтенсивності – третій фазі (виснаження) [10–12].

М'язи є класичною моделлю для вивчення ПОЛ. Однак, слід зазначити, що в порівнянні з печінкою, в них нижчий вміст таких антиоксидантів як супероксиддисмутази (СОД) та токоферолу [13]. Активність САЗ у м'язах нижча, ніж в печінці та еритроцитах. Втім, для оцінки стану організму та ступеня впливу на нього різноманітних зовнішніх чинників, в тому числі несприятливих, застосовуються в якості біомаркерів ферменти САЗ які містяться у м'язовій тканині. Вони здатні розкладати, тим самим детоксикуючи, активні форми кисню, які утворюються в результаті біотрансформації ксенобіотиків. Таким чином, аналіз активності антиоксидантних ферментів (АОФ) у м'язах та рівень накопичення продуктів ПОЛ здатний надати адекватну інформацію про відгуки організму на надходження ксенобіотиків та його резистентність до різноманітних чинників зовнішнього середовища [8–10].

Мета досліджень полягала у з'ясуванні впливу сухих інактивованих пекарських дріжджів у раціоні молоді російського осетра на інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів та систему антиоксидантного захисту організму. Це дасть можливість подальшого прогнозування функціонального стану його імунної системи, формування опірності до стресових чинників при культивуванні в аквакультури.

Матеріали і методи. На базі ДП ДГ Львівської дослідної станції Інституту рибного господарства НААН було досліджено вплив інактивованих пекарських дріжджів на процеси

перебігу пероксидного окиснення ліпідів, а отже і стану системи антиоксидантного захисту. Експериментальним матеріалом була молодь російського осетра (*Acipenser guldenstaedtii*), яку підросували в умовах замкнутого водопостачання. У віці 24 діб після переходу на екзогенне живлення її розділили на 3 групи, яких годували протягом 30 днів трьома різними раціонами. Контрольна група риб споживала сухий стартовий корм фірми Біомар (Ініціо +). Раціон дослідної групи № 1: до корму додавали (5 %) сухих дріжджів із розрахунку на денну норму, раціон групи № 2 – в денну дозу корму вносили (15 %) сухих дріжджів. Інактивацію дріжджів здійснювали в умовах тривалої заморозки при мінус 80 °С.

Для біохімічних досліджень використовували 10 % гомогенати тканин печінки російського осетра. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за допомогою відсотку гальмування реакції відновлення нітросинього тетразолію в присутності феназинметасульфату. Активність каталази (КАТ) досліджували за зміною концентрації H_2O_2 . Концентрацію дієнових кон'югатів (ДК) обраховували за методом, що ґрунтується на визначенні оптичної густини гептанізопропанольного екстракту ліпідів. Виявлення концентрації малонового діальдегіду (ТБК-активного продукту) проводили спектрофотометрично за кольоровою реакцією з тіобарбітуровою кислотою [14, 15].

Цифрові дані опрацьовували біометричним методом варіаційного непараметричного аналізу за допомогою програми Microsoft Excel пакета табличного редактора Microsoft Office Professional XP та програми Statistica 6.0. Різниці між величинами вважали статистично вірогідними: $p < 0,05$; 0,01 і 0,001.

Результати й обговорення. Результати досліджень виявили суттєвий вплив інактивованих дріжджів у якості кормової добавки на активність ензимів системи антиоксидантного захисту, що забезпечує адаптацію організму до мінливих умов навколишнього середовища. Так, активність каталази (КФ 1.11.1.6) після 7 діб годівлі раціоном № 1 залишилась без змін, а раціоном № 2 – знизилась на 50 %, що свідчить про зниження активності процесів перекисного окиснення в м'язах (рис. 1).

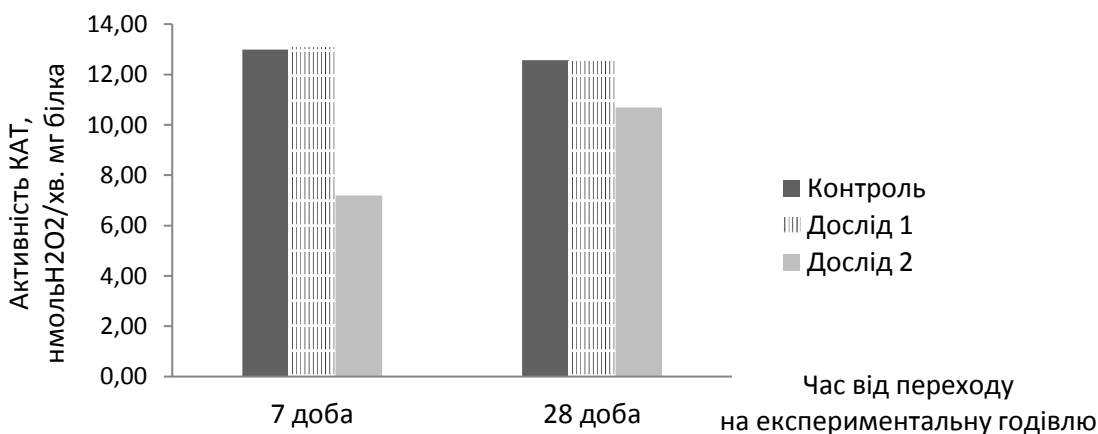


Рис. 1. Активність каталази у м'язах російського осетра ($M \pm m$, $n=15$)

КАТ є геміновим ензимом, що містить Fe^{3+} і бере участь у тканинному диханні. Він каталізує розкладання пероксидів, які утворюються в процесі біологічного окиснення токсичного пероксиду водню ($C_{15}H_{24}O$) на воду і молекулярний кисень, а також окиснює в його присутності низькомолекулярні спирти і нітроти. Активність каталази у м'язах залишається практично без змін, що свідчить про відсутність стресового процесу у досліджуваній тканині за умов годівлі раціоном з 5 % інактивованих дріжджів. Проте, збільшення в раціоні мальків російського осетра дріжджів до 15 % вже на сьому добу приводить до зниження оксидативних процесів.

За дії дріжджів, якими збагачувався раціон молоді російського осетра, рівень активності іншого важливого ензиму – супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.1) протягом семи діб

не зазнав особливих змін. Однак, через 28 діб експерименту в обох дослідах рівень активності ензиму знизився у тричі. Це свідчить про настання адаптації з боку САЗ (рис. 2).

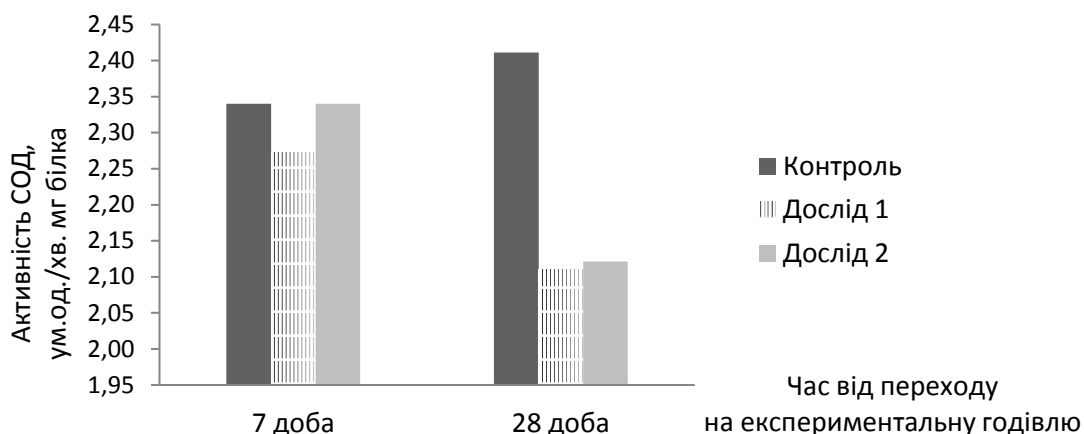


Рис. 2. Активність СОД у м'язах російського осетра ($M \pm m$, $n=15$)

Сьома доба експериментального живлення, яка відповідає 28 добі екзогенного живлення личинок російського осетра, співпадає з періодом завершення метаморфозних змін організму, що супроводжуються стресами, які активують процеси антиоксидантного захисту. Протягом цілого періоду експериментальної годівлі, збільшення вмісту нуклеїнових кислот з інактивованих дріжджів до 5 та 15 % в раціоні знижує активність СОД, що свідчить про зниження інтенсивності утворення продуктів дисмутації – перекису водню.

Проведені дослідження виявили суттєвий вплив інактивованих дріжджів у якості кормової добавки на процеси ПОЛ. Зокрема, його первинних продуктів – ДК. Оскільки енергія розриву С-Н зв'язку менша, вони переважно окиснюють ω -3-поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК) з великою кількістю подвійних зв'язків: арахідонову ($C_{20}H_{32}O_2$), ейкозопентаєнову ($C_{20}H_{30}O_2$) та докозогексаєнову ($C_{22}H_{34}O_2$) кислоти. Через те, що вміст ПНЖК у складі ліпідів (особливо фосфоліпідів) осетрових видів риб вищий, ніж у ссавців, вони чутливіші до ПОЛ. Накопичення на 7 добу у двох дослідах експериментальної годівлі ДК свідчить про наявність оксидативного стресу, спричиненого адаптацією організму після настання метаморфозних змін травної системи, а також зростанням вмісту нуклеїнових кислот у раціоні. Через 20 діб експерименту стрес дещо знижується, однак у м'язовій тканині все ще залишається високим вміст ДК не залежно від кількості згодованого дріжджового субстрату. Вміст ДК у м'язах характеризує ранню стадію ПОЛ (рис. 3).

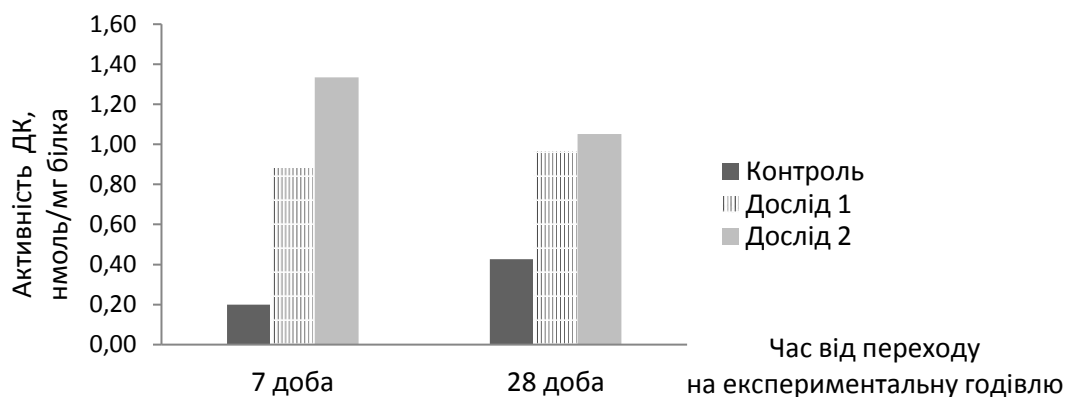


Рис. 3. Вміст ДК у м'язах російського осетра ($M \pm m$, $n=15$)

Малоновий діальдегід (МДА) – кінцевий продукт ПОЛ, рівень накопичення якого свідчить про активізацію перекисних процесів в організмі молоді російського осетра (рис. 4).

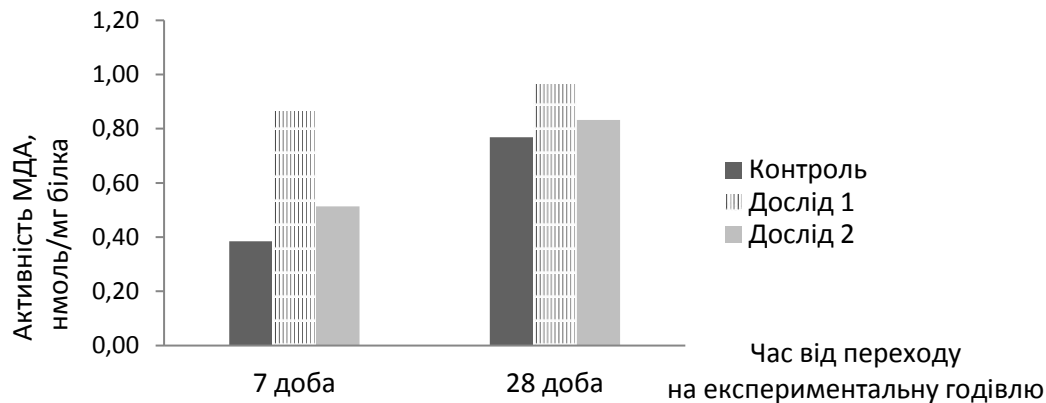


Рис. 4. Активність МДА у м'язах російського осетра, ($M \pm m$, $n=15$).

Дещо подібна ситуація спостерігається з метаболізмом МДА, кількість якого після семи днів експерименту підвищується майже удвічі в першому досліді і на 20 % – у другому. Протягом 28 днів експерименту рівень МДА, практично, не відрізняється від контролю в обох дослідних групах, що свідчить про стабілізацію окисних процесів в організмі.

ВИСНОВКИ

Наявність дріжджів у раціоні російського осетра на ранніх етапах постембріонального розвитку, безпосередньо впливає на формування антиоксидантного статусу м'язової системи. Згодовування дріжджів у кількості 5 та 15 % від базового раціону молоді осетра протягом 7 днів спричиняє оксидативний стрес, що супроводжується накопиченням продуктів ПОЛ. Однак, протягом 28 днів експериментальної годівлі відбувається стабілізація гомеостазу і наслідки оксидативного стресу зникають на фоні підвищення рибницьких показників, що свідчить про можливість застосування добавки в ранній годівлі молоді російського осетра. Для досягнення позитивного рибницького ефекту від її вирощування в склад базового осетрового корму варто додавати інактивовані пекарські дріжджі в кількості – 15 % від раціону протягом 7 днів від початку переходу на екзогенне живлення. Оскільки вони хоча і викликають незначний оксидативний стрес, в цілому позитивно впливають на антиоксидантну систему організму молоді російського осетра.

Перспективи досліджень. З наведених вище даних видно, що використання інактивованих пекарських дріжджів у годівлі молоді російського осетра є достатньо перспективним напрямом. Тому подальші дослідження будуть спрямовані на аналіз їх впливу на основні фізіолого-біохімічні процеси організму та пошук оптимальних пропорцій введення в раціон, з метою оптимізації процесу підрощування молоді осетрових видів риб.

BAKER'S YEAST EFFECT ON INTENSITY OF OXIDATIVE PROCESSES IN MUSCLE OF RUSSIAN STURGEON (*ACIPENSER GULDENSTAEDTII*) FINGERLINGS

M. Yu. Simon

Institute of Fisheries of NAAS
135, Obukhivska str, Kiev-164, 03164, Ukraine,

S U M M A R Y

In article presents the results of studies on the effect of inactivated baker's yeast as a feed additive in the composition of the starting feed for russian sturgeon (*Acipenser guldenstaedtii*) fingerlings, on the intensity of of oxidative processes in his organism.

In this article analyzed the effect of inactivated baker's yeast on the processes of lipid peroxidation. For conducting research was used activities of enzymes (catalase and superoxide dismutase) of antioxidant defense system and the level of accumulation of lipid peroxidation products (conjugated dienes and malondialdehyde) in the muscles of russian sturgeon fingerlings.

The investigations revealed that the inactivated baker's yeast even cause the a slight oxidative stress, in general, they have positive effect on the antioxidant system of an organism of russian sturgeon fingerlings.

To achieve a positive effect on the fish-culture of its cultivation, should add inactivated baker's yeast to the base sturgeon feed, in an amount – 15 % of the diet, for 7 days from the beginning of the transition to exogenous feeding.

Keywords: RUSSIAN STURGEON (*ACIPENSER GULDENSTAEDTII*), VITALITY, FINGERLINGS, ANTIOXIDANT DEFENSE SYSTEM, LIPID PEROXIDATION, FEEDING, FEED ADDITIVES, INACTIVATED BAKERS' YEAST.

ВЛИЯНИЕ ПЕКАРСКИХ ДРОЖЖЕЙ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В МЫШЦАХ МОЛОДИ РУССКОГО ОСЕТРА (*ACIPENSER GULDENSTAEDTII*)

М. Ю. Симон

Институт рыбного хозяйства НААН
ул. Обуховская, 135, г. Киев-164, 03164, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

Статья представляет результаты исследований влияния инактивированных пекарских дрожжей, в качестве кормовой добавки в составе стартового корма для молоди русского осетра (*Acipenser guldenstaedtii*), на интенсивность окислительных процессов в его организме.

В работе проанализировано влияние инактивированных пекарских дрожжей на процессы перекисного окисления липидов. Для проведения исследований была использована активность ферментов системы антиоксидантной защиты (каталазы и супероксиддисмутазы) и уровень накопления продуктов перекисного окисления липидов (диеновых конъюгатов и малонового диальдегида) в мышцах молоди русского осетра.

По результатам проведенных исследований был сделан вывод, что дрожжи хотя и вызывают незначительный оксидативный стресс, в целом положительно влияют на антиоксидантную систему организма молоди русского осетра.

Для достижения положительного рыбоводческого эффекта от её выращивания в состав базового осетрового корма стоит добавлять инактивированные пекарские дрожжи в количестве – 15 % рациона в течение 7 дней от начала перехода на экзогенное питание.

Ключевые слова: РУССКИЙ ОСЕТР (*ACIPENSER GULDENSTAEDTII*), ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ, МОЛОДЬ РЫБ, СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ, ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ, КОРМЛЕНИЕ, КОРМОВЫЕ ДОБАВКИ, ИНАКТИВИРОВАННЫЕ ПЕКАРСКИЕ ДРОЖЖИ.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Абросимова Н. А.* Активность дегидрогеназ в процессе развития тимпании у молоди стерляди *Acipenser ruthenus* L. / Н. А. Абросимова, К. С. Абросимова // Юг России: экология, развитие. 2012. – № 1. – С. 59–63.

2. *Пименов Ю. Т.* Токсичное действие соединений ртути и олова на молодь осетровых рыб / Ю. Т. Пименов, Н. Т. Берберова, В. П. Осипова, и др. // Вестник ЮНЦ РАН. – 2005. – т. 1, № 1. – С. 33–40.
3. *Шахматова О. А.* Использование показателей антиоксидантной системы гидробионтов в экологическом мониторинге (аналитический обзор) / О. А. Шахматова // Рыбное хозяйство Украины. – 2009. – № 1. – С. 6–11.
4. *Черкесова Д. У.* Сравнительное изучение показателей окислительно-антиоксидантной системы в мышечной ткани русского осетра (*Acipenser gueldenstaedti* Brant) и карпа (*Cyprinus Carpio* L.) при воздействии свинца / Д. У. Черкесова, А. И. Рабаданова, Г. Р. Мурадова // Успехи современного естествознания. – 2012. – № 12. – С. 50–53.
5. *Ярмолюк В. А.* Функціональний стан системи антиоксидантного захисту за дії цинку і сполук селену / В. А. Ярмолюк, С. І. Крась, С. І. Тарасюк // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: Зб. наук. праць / Білоцерк. держ. аграр. ун-т – Біла Церква, 2010. – № 2(70) – С. 96–101.
6. *Васильева О. Б.* Липидный состав и некоторые показатели перекисного окисления липидов в печени рыб в условиях антропогенной нагрузки / О. Б. Васильева, М. А. Назарова, П. О. Рипатти, Н. Н. Немова // Материалы Всероссийской конференции с международным участием «Физиологические, биохимические и молекулярно-генетические механизмы адаптаций гидробионтов» (Борок, 22-27 сентября 2012 г) – Изд-во.: Борок, 2012. – С.60–66.
7. *Ліпіди як компонент адаптації риб до екологічного стресу* / Е. М. Попова, І. В. Кошій // Рибогосподарська наука України. – 2007. – № 1. – С. 49–56.
8. *Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у рыб (обзор)* / В. В. Грубинко, Ю. В. Леус // Гидробиологический журнал. – 2001. – № 3, т. 37. – С. 64–78.
9. *Антонова Н. А.* Исследование антиоксидантных свойств порфиринов и их комплексов с металлами / Н. А. Антонова, В. П. Осипова, М. Н. Коляда и др. // Макрогетероциклы. – 2010. – № 3(2-3). – С. 139–144.
10. *Гераскин П. П.* Реакции организма каспийских осетровых (*Acipenseridae*) на загрязнение среды обитания: дис...доктора биол. наук по специальности «Физиология» 03.03.01 / Гераскин П. П. – Москва, 2013. – 34 с.
11. *Исследование антиоксидантных свойств порфиринов и их комплексов с металлами* / Н. А. Антонова, В. П. Осипова, М. Н. Коляда и др. // Макрогетероциклы. – 2010. – № 3 (2-3). – С. 139–144.
12. *Черкесова Д. У.* Сравнительное изучение показателей окислительно-антиоксидантной систем молоди русского осетра и кутума в условиях нитритной интоксикации / Д. У. Черкесова, А. Б. Шахназарова, А. Р. Исуев // Вопросы ихтиологии. – 2010. – Т. 50, № 2. – С. 285–288.
13. *Абросимов С. С.* Липидная, жирнокислотная и антиоксидантная характеристика печени и мышц годовиков стерляди после зимовки / С. С. Абросимов, Е. Б. Абросимова // Актуальные вопросы рыбного хозяйства и аквакультуры бассейнов южных морей России: материалы Международной научной конференции (г. Ростов-на-Дону, 1–3 октября 2014 г.). – Ростов н/Д: Издательство ЮНЦ РАН, 2014. – С.291–295.
14. *Дубинина Е. Е.* Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов. / Е. Е. Дубинина, Л. Ф. Сальникова // Лабораторное дело. – 1983. – № 10. – С. 30–33.
15. *Королюк М. А.* Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лабор. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.

Рецензент – Ю. М. Забитівський, к. б. н., ДП ДГ Львівської дослідної станції Інституту рибного господарства НААН.