

ПОРУШЕННЯ ОБМІНУ РЕЧОВИН У ПЕЧІНЦІ КОРОПА І МОЖЛИВОСТІ ЙОГО КОРЕКЦІЇ ЗА УМОВ ТЕПЛОВОДНОГО РИБНИЦТВА

Ю. М. Пархоменко, Г. В. Донченко, З. С. Протасова

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України

Досліджено спрямованість метаболічних процесів та вміст основних вітамінів, коферментів і метаболітів у печінці риб за умов підвищення температури водного середовища. Встановлено, що підвищення температури води в середньому на 10 °С приводить до непропорційного зростання, порівняно з нормальними умовами, активності ключових ферментів енергетичного обміну та ферментів, що сприяють синтезу жирних кислот, наслідком чого є жиронакопичення в тканинах риб. Додавання до стандартного комбікорму домішки, що містить метіонін та вітаміни E, B₁ і PP, сприяє корекції метаболічних процесів і підвищенню рибопродуктивності. Використання домішки може бути особливо ефективним при адаптації риб до несприятливих умов, зокрема зміни температурного режиму водного середовища.

Ключові слова: РИБА, МЕТАБОЛІЗМ, ЛІПОГЕНЕЗ, ВІТАМІНИ, КОРМОВА ДОМІШКА, ТЕПЛОВОДНЕ РИБНИЦТВО

Глобальне потепління, що спостерігається останнім часом на нашій планеті, обумовлює необхідність дослідження впливу підвищеної температури навколишнього середовища на життєдіяльність живих істот. Зокрема, вплив зміни температури природних водоймищ на популяцію їх мешканців та фізіолого-біохімічні властивості окремих видів є предметом інтенсивного дослідження науковців останнім часом [1–6].

Зміну клімату вважають основною причиною зниження продуктивності озер Танганьїки, східної Африки [7, 8]. Відомо, що кожний вид риб має оптимальний діапазон температури для життєдіяльності (для переважної більшості це 15–24 °С). За межами оптимального температурного режиму вчені спостерігають зміни в їх фізіологічному розвитку, в окремих випадках — гальмування певних фізіологічних функцій [9–11].

Перший досвід щодо впливу підвищення температури водного середовища на розвиток організму промислових риб був отриманий у період активного розвитку промислового риборозведення на базі басейнів-охолоджувачів при теплових електростанціях. Програма створення таких господарств базувалась на ідеї щодо позитивного впливу підвищеної температури на розвиток риб [11, 12]. Але практика риборозведення висвітлила і низку проблем, пов'язаних з екологічними і фізіологічними особливостями розвитку риб за умов адаптації до зміни температури води за межі 16–24 °С. Затримка росту, деформація кістяку, спорадичне зниження стійкості та підвищення схильності до інвазії, порушення функціональної діяльності печінки, надмірне жиронакопичення було зареєстровано у риб за умов штучного розведення при підвищеній температурі [11–13]. Такі фізіологічні зміни пов'язують з нестійкістю температурного режиму в критичні періоди розвитку риби [4, 9].

В умовах індустріального рибництва підвищення продуктивності водойм за умов їх температурних змін, на думку вчених, може бути досягнуто декількома шляхами, головними з яких є створення трансгенних видів риб, адаптованих до критичних змін температури [14], та розробка біологічно активних домішок, дія яких спрямована на корекцію метаболічних

порушень в організмі в несприятливих умовах, реалізацію потенційних можливостей його росту та усуненню впливу негативних чинників на організм [15].

Метою роботи було дослідження характеру метаболічних змін, що спостерігаються в тканинах риб, при адаптації їх до підвищеної температури штучних водойм і випробування ефективності біологічно активних домішок, призначених для корекції певних порушень метаболічних процесів за цих умов.

Матеріали і методи

У дослідях було використано коропів (*Cyprinus carpio*) різних вікових груп (молодь, однілітки, дволітки). Проведено три серії досліджень.

Метою першої серії досліджень було провести порівняльний аналіз певних біохімічних показників у печінці риб у динаміці за умов їх утримання в природних ставках і штучних тепловодних басейнах. Протягом експерименту температура води в штучних басейнах коливалася від 24 до 28 °С, в природних ставках — від 19 до 21 °С. Дослідження тривали протягом 6 місяців (квітень-жовтень) і проводилися на рибах із трьох тепловодних басейнів і трьох природних ставків, що належали рибним фермам Київської області. Кожного разу зариблення проводилось однорічними коропами з середньою початковою вагою 20 г. Риб годували стандартним комбікормом R-III, розробленим Українським Інститутом рибного господарства, до складу якого входили всі необхідні поживні речовини, включаючи білок (34 %), вітаміни та мікроелементи. Протягом першого сезону зразки риб відбиралися із одного природного ставка (Київська область) і двох тепловодних садкових басейнів (для порівняння). Протягом другого сезону дослідження було проведено на рибах із трьох тепловодних басейнів і трьох природних ставків, що належали рибним господарствам Київської області.

Зразки риб відбирали щомісячно протягом активного росту (червень-жовтень). Для біохімічних аналізів відбирали печінку, в якій визначали вміст загальних білків, ліпідів, жирних кислот, вміст окремих вітамінів (Е, А, В₁, РР), коферментів та метаболітів (NAD, ТДФ, коензим Q, холін, глутатіон, цитрат). Результати аналізів узагальнені і статистично оброблені.

У другій серії проводилось дослідження впливу окремих біологічно активних домішок до комбікорму на ті ж біохімічні показники в печінці коропів, що утримувались в штучних тепловодних басейнах. У досліді використано однорічних коропів (70–80 г), які поміщали в садки розміром 1x1x2 м по 85 риб у кожній. Садки поміщали в межах потоку теплої води з басейнів-охолоджувачів теплової електростанції. До стандартного комбікорму, що був використаний у всіх постановках, у дослідних групах додавали одну із наступних домішок: холін —1 % (в/в), вітамін РР (РР, ніотинова кислота, комбінація метіоніну з вітамінами Е, В₁ і РР (0,4 %, в/в). Дослід тривав 45 днів (серпень-вересень), по закінченні цього терміну риби відбирались для проведення біохімічних аналізів. Аналізували середню вагу, вміст загальних ліпідів, білків, вітамінів, коферментів (вказано вище), глутатіону, цитрату, активність ключових ферментів вуглеводного обміну та ліпогенезу — піруватдегідрогеназного комплексу (ПДК), α -кетоглутаратдегідрогеназного комплексу (КГДГ) і ацетил-Со-карбоксилази (АсСоАК).

Перевірка ефективності розробленого комплексу біологічно активних речовин у підвищенні стійкості риб до температурних коливань було проведено на молоді коропів. Молодь з початковою вагою 3 г, було розділено до зимівлі на дві групи, які було висаджено в спеціальні садки (по 200 екземплярів у садок, по три садки в кожній групі). Контролем слугували риби, які утримувались на стандартному кормі, дослідні риби протягом 45 діб до пересадженням на зимівлю разом з тим же кормом отримували вищевказану комбінацію біологічно активних речовин. Зимівля тривала 3 місяці, протягом цього терміну риби не одержували корму. По закінченні зимівлі аналізували середню вагу риб, вміст білків, ліпідів, РНК та ДНК в їх скелетних м'язах.

Визначення біохімічних показників. Загальний вміст неетерифікованих жирних кислот визначали за методом Novak [16]; ліпідів — за методом Folch et al. [17], білка — за методом Lowry, як описано раніше [18]; вільних SH-груп (показник вмісту глутатіону) — з реактивом Еллмана [19]; цитрату, нікотинамідаденіндинуклеотиду (NAD) — з використанням загальновідомих ензиматичних методів, описаних раніше [20]; тіаміну і тіаміндіфосфату — тіохромним методом [21]. Вітамін Е і коензим Q визначали згідно з методами, описаними Донченко [22]. Визначення активності піруватдегідрогеназного (ПДК) та α -кетоглутаратдегідрогеназного (КГДГ) комплексів проведено згідно з раніше описаними методами [18], ацетил_СоА-карбоксилази (АсСоАК) — за методом у модифікації Фоменко та ін. [20]. Активність ензимів виражали як нмоль субстрату ензиматичної реакції, що перетворюються за 1 хв 1 мг протеїну (далі — «одиниця»).

Порядок відбору проб. У першій серії дослідів при вимірі середньої маси риби відбирали зразки по 10–15 (не менше 10) екземплярів із кожного резервуару, статистична обробка даних була виконана в межах окремої групи і між різними групами.

Біохімічні дослідження були виконані на зразках, які відбирали протягом активного росту риби. У залежності від маси риби (яка збільшувалася протягом сезону) від 40 (спочатку) до 15 екземплярів були відібрані для досліджень (не менше ніж 5 екземплярів від одного садка в другій серії).

У більшості випадків, коли вміст вітамінів, коензимів, метаболітів та активність ензимів аналізували, зразки риби, відібраної з ідентичного за умовами вирощування басейну, були об'єднані в одній групі, і статистична обробка даних була виконана і всередині цієї групи, і відносно інших груп. Таким чином кожний параметр, наведений у таблицях як величина $M \pm m$, відображає середнє значення для 15–20 незалежних аналізів.

Одержані дані оброблені статистично з використанням t-критерію Ст'юдента [23]. Вірогідність різниці в значенні параметра між групами приймалась до уваги при $p < 0,05$.

Результати й обговорення

Порівняльне дослідження біохімічних параметрів у печінці риби, які вирощувались за умов тепловодного риборозведення та утримувалася у природних водних басейнах.

У першій серії дослідів досліджено вплив підвищеної температури води на біохімічні показники тканин печінки коропів. У досліді включено три тепловодні водойми (далі — «дослід») та три природні ставки рибоводних господарств Київської області («контроль»). Риби були відсажені у водойми в квітні, відбір зразків на біохімічні аналізи проводився на початку жовтня. Визначали середню масу риби, вміст ліпідів, неетерифікованих жирних кислот, а також деяких вітамінів, коферментів та метаболітів у печінці риби як вказано вище.

Середня початкова маса риби в обох групах була однаковою і складала $20,0 \pm 0,6$ г. Визначення середньої маси риби проводився щомісячно. Через місяць, протягом якого, ймовірно, відбувалася адаптація риби до нових умов, не спостерігалось суттєвих змін цього показника у всіх групах. Через два місяці середня маса риби у контрольних водоймах дорівнювала (у г, $n=30$): $35,0 \pm 4,5$; $32,6 \pm 4,1$; $30,9 \pm 5,0$, а в дослідних — $26,3 \pm 3,5$; $28,5 \pm 4,2$; $24,0 \pm 3,1$. Як видно, вже на цьому етапі спостерігається певна тенденція до уповільнення росту риби за дослідних умов, але вірогідна різниця у масі дослідних і контрольних риби спостерігалась лише через три місяці, коли вона складала (у г, $n=30$): $36,0 \pm 4,2$; $38,1 \pm 4,4$; $40,9 \pm 5,3$ і $106,5 \pm 11,3$; $95,8 \pm 8,1$; $89,5 \pm 8,3$, відповідно.

Відставання в рості дослідних риби від контрольних мало місце і далі на протязі всього терміну спостереження. У кінці сезону (жовтень) середня маса дослідних риби у трьох садках складала (у г, $n=15$): $223,5 \pm 18,3$; $260,6 \pm 22,0$; $189,9 \pm 19,2$, а контрольних — $410,5 \pm 49,0$; $376,0 \pm 22,5$; $356,2 \pm 38,7$.

Таким чином, наприкінці сезону середня маса риб у тепловодних водоймах дорівнювала $224,6 \pm 28,9$ г ($n=45$), що на 40 % було нижче за такий же показник у риб, що вирощувались за природних умов ($380,9 \pm 22,4$, $n=45$). На цей час середня довжина тіла риб у дослідній групі дорівнювала $18,3 \pm 0,61$ г (відповідно $18,4 \pm 1,6$; $17,5 \pm 1,3$; $19,0 \pm 1,5$ у кожному басейні), а у контрольних водоймах — $21,3 \pm 0,6$ ($21,3 \pm 1,8$; $20,6 \pm 1,7$; $22,1 \pm 1,5$ відповідно).

Зразки на біохімічні аналізи відбирали протягом найбільш активного росту риб щомісячно, починаючи з 3 по 6 місяці після зариблення (з липня по жовтень). Беручи до уваги дані літератури щодо накопичення ліпідів у тканинах риб, які утримувались в тепловодних водоймах [12], у зразках печінки контрольної та дослідної груп визначали загальний вміст ліпідів, концентрацію неетерифікованих жирних кислот, цитрату, глутатіону (вільні SH-групи), активність ключових ферментів метаболізму вуглеводів, а саме піруватдегідрогеназного комплексу (ПДК), α -кетоглутаратдегідрогеназного комплексу (КГДГ) та ацетил-СоА-карбоксілази. Результати усереднених аналізів наведених вище показників у печінці риб дослідної та контрольної групи наприкінці сезону приведено у таблиці 1.

Таблиця 1

**Біохімічні показники в печінці риб, що вирощувались за різних умов, ($M \pm m$, $n=15$).
Зразки на аналіз відібрано у жовтні**

| Показник | Група риб | |
|---|---|--|
| | Вирощувались в природному ставку (контроль) | Вирощувались в тепловодному басейні (дослід) |
| Загальний білок, мг / г натуральної маси | $75,9 \pm 6,1$ | $79,6 \pm 6,1$ |
| Загальні ліпіди, мг / г натуральної маси | $50,8 \pm 4,8$ | $80,8 \pm 5,7^*$ |
| Неетерифіковані жирні кислоти, наномоль / г натуральної маси | $23,8 \pm 3,9$ | $46,4 \pm 6,4^*$ |
| Глутатіон (як вільні SH-групи), наномоль / г натуральної маси | $8,4 \pm 1,0$ | $5,2 \pm 0,7^*$ |
| Коензим Q, мкг / г натуральної маси | $2,17 \pm 0,17$ | $1,58 \pm 0,13^*$ |
| Холін, мг / г натуральної маси | $3,44 \pm 0,33$ | $2,26 \pm 0,32^*$ |
| Цитрат, mM | $0,35 \pm 0,07$ | $0,62 \pm 0,09^*$ |

Примітка: у цій і наступних таблицях* — $p \leq 0,05$.

Загальний вміст протеїну в тканині печінки суттєво не відрізнявся в контрольній та дослідній групах. У той же час у дослідній групі спостерігається більш, ніж у 1,5 раза збільшення рівня загальних ліпідів і майже вдвічі — неетерифікованих жирних кислот. Збільшується також концентрація цитрату в печінці коропів, що утримувались в теплих водоймах (табл. 1).

Отримані дані свідчать, що активність ПДК і АсСоАК була набагато вищою у печінці дослідної групи риб відповідно такого ж показника в контролі протягом усього експерименту (табл. 2). Слід зазначити, що в процесі росту риби активність ПДК поступово зростала і в дослідній, і в контрольній групах, але в дослідній групі вона була вищою ніж у контролі і наприкінці сезону становила (у одиницях, $n=10-15$) відповідно $0,656 \pm 0,072$ і $0,488 \pm 0,036$ ($p < 0,05$). Активність АсСоАК не змінювалась суттєво в процесі росту, але, починаючи з першого виміру (через 4 місяця після зариблення), цей показник був вищим (в 2,7 раза) у печінці риб дослідної групи і через 5 місяців активність АсСоАК становила $0,494 \pm 0,080$ одиниць і $0,259 \pm 0,053$ одиниць в дослідній і контрольній групі відповідно (табл. 2).

Активність ензимів в печінці риб, які утримувались за різних умов, (M±m, n=10–15)

| Час від початку дослідження, місяців | Умови вирощування риби | |
|--------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | Природний ставок (контроль) | Тепловодний басейн (дослід) |
| <i>Активність ПДК, одиниці</i> | | |
| 3 | 0,144±0,024 | 0,592±0,072* |
| 4 | 0,208±0,049 | 0,876±0,120* |
| 5 | 0,352±0,064 | 0,748±0,104* |
| 6 | 0,488±0,036 | 0,656±0,072* |
| <i>Активність АсСоАК, одиниці</i> | | |
| 4 | 0,233±0,050 | 0,625±0,082* |
| 5 | 0,259±0,053 | 0,494±0,080* |
| 6 | 0,306±0,060 | 0,423±0,065 |
| <i>А-КГДГ, одиниці</i> | | |
| 4 | 1,748±0,148 | 0,918±0,103* |
| 5 | 0,918±0,130 | 0,510±0,118* |
| 6 | 0,533±0,078 | 0,252±0,074* |

Наприкінці сезону активність цього ферменту залишалася все ще вищою в печінці риб дослідної групи, але різниця в показниках між дослідною та контрольною групами не була вірогідною ($p > 0,05$).

Більш високий рівень загальних ліпідів і неетерифікованих жирних кислот, також як і тенденція до збільшення концентрації цитрату і активність АсСоАК і ПДК, у тканинах риб протягом їх активної стадії росту може непрямо відображати інтенсивність ліпогенезу. АсСоАК— перший ензим у біосинтезі жирних кислот. Ензим локалізований переважно в цитоплазмі клітин і каталізує карбоксилювання ацетил-СоА до малоніл-СоА, останній відіграє ключову роль в синтезі ліпідів. Показано, що АсСоАК є адаптивним ензимом у риб, також як і у ссавців [25]. Ацетил-СоА — кінцевий продукт функціонування ПДК, який локалізований у матриксі мітохондрій. Ацетил-СоА транспортується з мітохондрій у цитоплазму, як лимонна кислота (цитрат), та збільшує концентрацію цитрату в клітинах разом із збільшенням вмісту загальних ліпідів і неетерифікованих жирних кислот, що в цілому є свідченням інтенсифікації процесів біосинтезу ліпідів.

На протилежність змінам в активності вищеописаних двох ензимів активність КГДГ, протягом всього терміну спостережень, була нижчою в печінці риб дослідної групи в порівнянні з контрольною групою. Більш низька активність КГДГ у дослідній групі риб порівняно з таким же показником у риб контрольної групи, вказує на те, що окислювальні реакції в циклі Кребса протікають менш інтенсивно в теплій воді і тому частина Ацетил-СоА, що синтезується при окислювальній піруват піруватдегідрогеназним комплексом, іде на синтез жирних кислот. Більш низький рівень убіхінону — коензиму Q, який приймає участь в процесах транспорту електронів у мітохондріях, і вільних SH-груп також вказує на зниження окислювальних процесів у тканинах дослідної групи риб (табл. 1). Концентрація вільних SH-груп у тканинах фактично віддзеркалює вміст відновленого глутатіону, який домінує серед вільних тіолів і створює певну буферну систему для окислювально-відновних тіол-дисульфідних перетворень. Глутатіон за участю декількох ензимів приймає участь у детоксикації пероксидів та вільних радикалів, які можуть накопичуватися в живому організмі при несприятливих умовах.

Також у печінці риб, що утримувались в тепловодних басейнах, спостерігається зменшення вмісту холіну порівняно з таким же показником для риб контрольної групи (табл. 1). Холін запобігає накопиченню нейтральних жирів, ініціюючи їх використання в

синтезі фосфоліпідів. Тому дефіцит холіну може спричиняти жирове переродження печінки. Крім того, зниження в тканині печінки вмісту холіну, який синтезується за участю реакцій трансметилування, свідчить про обмеженість останніх процесів, ймовірно, за рахунок дефіциту донорів метильних груп.

Аналіз вмісту вітамінів А, Е, РР у печінці риб не виявив значної різниці за цими показниками в контрольній і дослідній групах (дані не наводяться). У той же час рівень вітаміну В₁ (тіаміну) в печінці риб дослідної групи наприкінці сезону був вищим за контрольну і складав $1,62 \pm 0,5$ мкг ($n=15$) проти $0,92 \pm 0,10$ мкг у 1 г вологої тканини ($n=15$) у контролі ($p < 0,05$). Останні дані можуть свідчити про гальмування в тканині печінки дослідних риб обміну тіаміну (можливо, і інших вітамінів) та перетворення його на біологічно активні похідні.

Таким чином, порівняльне дослідження метаболічних процесів у тканинах печінки риб, які утримуються в тепловодних та природних умовах, показало, що інтенсивність біохімічних окислювальних процесів була істотно зменшена, а біосинтез ліпідів активізований у риб, які вирощувались при тепловодному риборівництві. Такі метаболічні зміни вели до затримки росту риби та накопичення ліпідів у тканинах. Тобто, результати першої серії досліджень показали, що риба, яка тривалий час перебуває в тепловодних водоймах, потерпає від ожиріння.

Вплив домішок біологічно активних речовин на метаболічні процеси в печінці риб, що утримувались у тепловодних водоймах

У першій серії дослідів було встановлено суттєве порушення метаболічних процесів у тканинах риб, що вирощувались в тепловодних водоймах, порівняно з такими, що утримувались в природних ставках, хоча обидві групи отримували однаковий стандартний комбікорм. Звичайно, буде неправильним пояснювати цей феномен тільки різницею температурного режиму. В природних ставках риби мали постійну підгодівлю у вигляді планктону, відрізнялись і деякі параметри води, крім температури, (концентрація кисню, забруднення певними речовинами та ін.). Аналіз змін у біохімічних показниках свідчив про зниження в тканинах дослідних риб процесів трансметилування (зниження вмісту глутатіону, холіну, убіхінону), окислювальних процесів. У другій серії досліджень була зроблена спроба скорегувати метаболічні порушення в організмі дослідних риб за допомогою певних біологічно активних речовин, здатних активувати порушені процеси.

Контролем (I) слугували риби, які утримувались на стандартному комбікормі в тих же умовах, що і дослідні. До стандартного комбікорму в дослідних групах додавали одну із трьох домішок: II — холін 1 % (в/в) — донор металічних груп; III — вітамін РР (з метою активації окислювальних процесів); IV — комбінація метіоніну з вітамінами Е, В₁ і РР (0,4 % в/в). Експеримент тривав 45 днів (серпень-вересень), зразки на аналізи відбирали через кожні 10–15 днів.

Визначались такі ж показники, що і в першій серії дослідів: маса тіла, загальний вміст ліпідів, білка, окремих коферментів — тіаміндіфосфату (ТДФ) і NAD, метаболітів і активність ферментів — ПДК, КГДК, АсСоАК.

Спостереження показали, що після періоду адаптації (приблизно 4 тижні) найбільшої середньої маси досягли риби, які отримували домішку IV (комбінацію речовин). У кінці досліду середня вага (у г, $n=15$) становила: 112 ± 9 ; 108 ± 10 ; 122 ± 12 і 145 ± 10 , відповідно в контрольній групі риб, і в групах, що отримували холін (II), вітамін РР (III) і комплекс біологічно активних речовин (IV). Вірогідна різниця відповідно контролю спостерігалася тільки в четвертій дослідній групі. Через 25 днів від початку досліду вміст загальних ліпідів у печінці всіх дослідних груп риб був нижчим відповідно контролю, але вірогідна різниця порівняно до контролю спостерігалася лише через 35 днів, коли цей показник становив (в г, $n=15$) у контрольній групі — $0,091 \pm 0,006$ г на 1 г натуральної тканини, в дослідних, відповідно: II — $0,063 \pm 0,005$; III — $0,060 \pm 0,005$; IV — $0,075 \pm 0,003$ на 1 г натуральної

тканини. Через 45 днів від початку досліду вміст ліпідів у печінці контрольної групи риб ще збільшився і складав, відповідно (у г, n=15, p<0,05) у контролі (I) — 0,108±0,009, у дослідних групах: II — 0,060±0,005, III — 0,063±0,004; IV — 0,073±0,006 на 1 г натуральної тканини.

Всі досліджувані домішки сприяли зниженню активності ПДК і АсСоАК у тканинах печінки дослідних груп риб (табл. 3).

Таблиця 3

Активність ензимів в печінці риб, що отримували різні домішки до корму (риби утримувались в теплій воді), (M±m, n=10)

| Додавання до корму | Час, дні від початку досліду | | |
|---|------------------------------|--------------|--------------|
| | 15 | 30 | 45 |
| <i>Активність ПДК, одиниці</i> | | | |
| Стандартний комбі- корм | 0,065±0,010 | 0,939±0,123 | 0,789±0,096 |
| Додавання 1% (в/в) холіну | 0,070±0,010 | 0,193±0,035* | 0,175±0,035* |
| Додавання вітаміну РР | 0,070±0,008 | 0,088±0,019* | 0,105±0,026* |
| Додавання суміші метіоніну, вітамінів Е, В ₁ та РР | 0,100±0,010 | 0,386±0,061* | 0,403±0,061* |
| <i>Активність КГДК, одиниці</i> | | | |
| Стандартний комбі- корм | 0,168±0,048 | 1,226±0,097 | 0,323±0,061* |
| Додавання 1% (в/в) холіну | 0,306±0,032* | 1,393±0,106 | 0,768±0,081* |
| Додавання вітаміну РР | 0,387±0,064* | 1,065±0,064 | 0,935±0,048* |
| Додавання суміші метіоніну, вітамінів Е, В ₁ та РР | 0,516±0,061* | 1,710±0,116* | 1,645±0,148* |

Суттєва різниця в активності ПДК між контрольною та дослідною групами риб спостерігалася через 30 днів від початку досліду. Активність АсСоАК також була нижчою відповідно контролю в тканині печінки всіх дослідних груп риб вже через 15 днів годівлі з домішками, різниця збільшувалась в кінці досліду (дані не наведено). Що стосується активності КГДГ (табл. 3), то найбільш суттєве підвищення її в печінці риб спостерігалось при додаванні до корму домішки IV (комплексу біологічно активних речовин), що відображає активацію окислювальних процесів.

У таблиці 4 наведено дані щодо вмісту окремих коферментів та метаболітів у тканині печінки риб всіх груп наприкінці досліду. Дані свідчать, що вміст біологічно активної форми вітаміну РР–NAD підвищує в печінці риб всіх дослідних груп, а найбільш суттєво — у IV групі. Вміст коферментної форми вітаміну В₁-тіаміндифосфату (ТДФ) знижувався відповідно контролю тільки в групі II (+ холін), в інших групах цей показник майже не відрізнявся від контролю. Додавання до комбікорму вітаміну РР (варіант III) і комплексу декількох біологічно активних речовин (варіант IV) сприяло ефективному підвищенню вмісту коензиму Q в печінці дослідних груп риб (табл. 4). Всі використані домішки сприяли ефективному підвищенню концентрації глутатіону (вільних SH-груп) у печінці риб (табл. 4). Цей показник відображає потенційну активність біохімічної системи антиоксидантного захисту організму та може свідчити про більш високу життєздатність організму.

Вміст холіну в тканині печінки дослідних груп риб, що отримували домішки біологічно активних речовин, також був вищим ніж у контролі на 17–30 % (табл. 4), що свідчить про стимуляцію цими домішками ендогенного синтезу холіну.

Результати проведеного дослідження дають підстави вважати перспективним використання комплексу біологічно активних речовин (метіонін, вітаміни Е, В₁, РР), як домішку для підвищення виживання риб (інших тварин) у несприятливих умовах.

Незважаючи на те, що до складу вищевказаного комплексу включено три вітаміни, ми впевнені, що його дія спрямована не стільки на усунення певного дефіциту цих вітамінів у організмі риб, а і на активацію біохімічних процесів, що сприяють синтезу біологічно активних похідних вітамінів і реалізації їх регуляторних функцій у клітинному метаболізмі.

Вміст коферментів у печінці риб, які отримували різні домішки до корму, мкг/г вол. тканини (глутатіон — у мкМ), ($M \pm m$, $n=15$)

| Показник | Домішка | | | |
|-----------|---------------------|------------|------------|--|
| | Відсутня (контроль) | Холін | Вітамін РР | Суміш метіоніну, вітамінів Е, В ₁ та РР |
| NAD | 195±12 | 236±41 | 219±33 | 287,5±19* |
| ТДФ | 1,93±0,20 | 1,17±0,21* | 1,79±0,22 | 1,95±0,21 |
| Коензим Q | 42,0±2,8 | 37,0±1,3 | 63,4±3,8* | 57,0±3,2* |
| Холін | 4,8±0,2 | 5,6±0,3 | 6,4±0,4* | 5,6±0,2* |
| Глутатіон | 8,6±0,4 | 9,2±0,3 | 10,5±0,4* | 11,7±0,5* |

Приклад випробування ефективності комплексу біологічно активних речовин на молоді риб. Здатність розробленого біологічно активного комплексу підвищувати життєздатність риб у несприятливих умовах перевірялась на молоді коропів, які йшли в зимівлю. Домішка додавалася до корму риб протягом 45 днів до пересадження її в резервуари для зимівлі. Зимівля тривала 3 місяці, на протязі цього терміну риби не одержували корму і, звичайно, втрачали у вазі. Враховували кількість екземплярів, що виживали за цей період, аналізували середню масу тіла риб, вміст білка, ліпідів, РНК та ДНК у скелетних м'язах до та після закінчення зимівлі.

Таблиця 5

Ефект впливу комплексної кормової домішки на молодь коропів до та після зимівлі

| Показник | До зимівлі | | Після зимівлі | |
|----------------------------|------------------|----------------|------------------|----------------|
| | Контрольна група | Дослідна група | Контрольна група | Дослідна група |
| Початкова вага, г | 3,0 | 3,0 | 14,0±0,5 | 19,5±0,9 |
| Кінцева вага, г | 14,0±0,5 | 19,5±0,9* | 11,0±0,5 | 18,0±1,0* |
| Зміна ваги, у % | +367,0 | +550,0 | -21,4 | -7,7 |
| Вживання, % | 94 | 99 | 85 | 98 |
| Відношення протеїни/ліпіди | — | — | 1,47 | 1,97 |
| Відношення РНК/ДНК | — | — | 15,2 | 15,3 |

Дані, наведені у таблиці 5, свідчать, що додавання біологічно активної домішки сприяє підготовці організму риб до більш активного росту та суттєвому підвищенню їх життєздатності під час зимівлі: значно меншою є втрата маси тіла, збільшується кількість особин, що вижили. Тобто аналізи підтверджують позитивний ефект домішки на показники виживання риб.

Висновки

1. Встановлено, що підвищення температурного режиму приводить до непропорційних змін в активності ключових ензимів обміну речовин у риб, а саме, зростає, порівняно з нормальними умовами, активність ензимів, що сприяють синтезу жирних кислот, і знижується активність ензимів енергетичного обміну. Наслідком вищевказаного є жиронакопичення в тканинах риб.

2. Додавання до стандартного комбікорму домішки, що містить метіонін та вітаміни Е, В₁ і РР сприяє кореляції метаболічних процесів і підвищенню життєздатності організму риб. Отримані дані свідчать про можливість та перспективність використання розробленої кормової біологічно активної домішки для утримання та розведення промислової риби.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати є підґрунтям для розробки спеціальних кормових домішок для промислового розведення та утримання риб різних порід та видів у різного типу господарствах марикультури з метою підвищення продуктивності виробництва, здешевлення продукції та покращення її товарної якості.

Yu. M. Parkhomenko, G. V. Donchenko, Z. S. Protasova

METABOLIC IMBALANCE IN LIVER OF CARPS AND POSSIBILITIES OF ITS CORRECTION IN CONDITIONS OF WARM-WATER FISH CULTURE

S u m m a r y

The direction of metabolic processes and the content of basic vitamins and coenzymes in liver of fishes which were cultivated in warm-water reservoirs were investigated. It is shown, that increase of temperature up to around 10 °C lead to disproportionate changes in the activity of some key enzymes. Accumulation of lipids in tissues of fishes is the consequence of these changes. When the supplementation, that contains vitamins E, B₁, PP and methionine, was added to standard fodder the correction of metabolic processes took place. Use of the premix can be particularly effective at adaptation of fish to unfavorable conditions.

Ю. М. Пархоменко, Г. В. Донченко, З. С. Протасова

НАРУШЕНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ПЕЧЕНИ КАРПОВ И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО КОРРЕКЦИИ В УСЛОВИЯХ ТЕПЛОВОДНОГО РЫБОВОДСТВА

А н н о т а ц и я

Исследована направленность метаболических процессов и содержание основных витаминов и коферментов в печени рыб, которые выращивались в тепловодных водоемах. Показано, что повышение температурного режима в среднем на 10 °C приводит к непропорциональным изменениям активности ключевых энзимов энергетического обмена и энзимов, способствующих синтезу жирных кислот. Следствием этих изменений является накопление липидов в тканях рыб. Добавление к стандартному комбикорму премикса, содержащего витамины E, B₁, PP и метионин, способствует корреляции метаболических процессов и повышению продуктивности рыбных хозяйств.

1. *Vaghela A.* Seasonal variations in the water quality, diversity and population ecology of intertidal macrofauna at an industrially influenced coast / A. Vaghela, P. Bhadia, J. Ramoliya et al // *Water Sci. Technol.* — 2010. — Т. 61, N 6. — P. 1505–1514.

2. *Sirbulescu R. F.* Effect of temperature on spinal cord regeneration in the weakly electric fish, *Apteronotus leptorhynchus* / R. F. Sirbulescu, G. K. Zupanc // *J. Comp.physiol. a neuroethol sens neural behav physiol.* — 2010. — Mar 26. — [Epub ahead of print].

3. *Nilsson G. E.* Effects of elevated temperature on coral reef fishes: Loss of hypoxia tolerance and inability to acclimate / G. E. Nilsson, S. Ostlund-Nilsson, P. L. Munday // *Comp. biochem. physiol. a mol. integr. physiology.* — 2010. — Mar 15. — [Epub ahead of print].

4. *Yang G. O.* Effects of water temperature and feeding on respiratory metabolism of juvenile *Salvelinus fontinalis* (on China) : article in Chinese / G. O. Yang, S. G. Xu, Y. Z. Wang et al // *Ying yong shen nai xue bao.* — 2009. — Т. 20, N 11. — P. 2757–2762.

5. *Vanella F. A.* Temperature influence on post-radial metabolic rate of sub-Antarctic teleost fish / F. A. Vanella, C. C. Boy, M. E. Lattuca, J. Calvo // *Comp. biochem.physiol f mol/integr. physiol.* — 2010. — Т. 156, N 2. — P. 247–254.

6. *Grim J. M.* Temperature acclimation alters oxidative capacities and composition of membrane lipids without influencing activities of enzymic antioxidants or susceptibility to lipid peroxidation in fish muscle / J. M. Grim, D. R. Miles, E. L. Crockett // *J. exp. biol.* — 2010. — Т. 213, N 3. — P. 445–452.
7. *O'Reilly C. M.* Climate change decreases equatic ecosystem productivity of Lake Tanganyika, Africa. *nature* / C. M. O'Reilly, S. R. Alin et al. — 2003. — Т. 424. — P. 731–732.
8. *Livingstone D. A.* Ecology. Global climate change strikes a tropical lake. *Science* / D. A. Livingstone. — 2003. — Т. 301. — P. 505–507.
9. *Demaël A.* Influence de la temperature sur le metabolisme des poissons (Effect of temperature on fish metabolism) / A. Demaël, G. Peres // *Ch. lab. hydrobiol. montereau.* — 1974. — Т. 1. — P. 21–26.
10. *Zimmermann C.* Respiration and activity of Arctic and Antarctic fish with different modes of life / C. Zimmermann; In: G. Di Prisco, E. Pisano, A. Clarke (Eds.) // *Fishes of Antarctic : a Biological Overview.* — Springer-Verlag-Italia, Milano, 1998. — P. 163–174.
11. *Татарко К. И.* Аномалии карпа и роль температурного фактора в их развитии / К. И. Татарко // *Биологический режим водоемов-охладителей ТЭЦ и влияние температуры на гидробионтов. Труды ВГБО.* — 1977. — № 21. — С. 157–197.
12. *Романенко В. Д.* Разработка фундаментальных аспектов прикладных проблем тепловодного рыбоводства / В. Д. Романенко // *Освоение теплых вод энергетических объектов для интенсивного рыбоводства.* — Киев : Наукова Думка, 1981. — С. 15–20.
13. *Zbikowska H. M.* Fish can be first-advances in fish transgenesis for commercial applications / H. M. Zbikowska // *Transgenic Res.* — 2003. — Т. 12. — P. 379–389.
14. *Саппо Г. В.* Влияние сброса подогретых вод Конаковской ГРЭС на рост леща в Ивановском водохранилище / Г. В. Саппо // *Гидробиологический журнал.* — 1975. — № 6. — С. 58–63
15. *Ortuno J.* The effect of dietary intake of vitamins C and E on the stress response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) / J. Ortuno, M. A. Esteban, J. Meseguer // *Fish. Shellfish. Immunol.* — 2003. — Т. 14, N 2. — P. 145–156.
16. *Novak M.* Colorimetric ultramicromethod for the determination of free fatty acids / M. Novak // *J. Lipid Res.* — 1965. — Т. 6. — P. 431–433.
17. *Folch J.* Preperation of lipid extracts from brain tissue / J. Folch, J. Ascoli, H. Hess et al. // *J. Biol. Chem.* — 1951. — Т. 191, №2. — P. 823–831.
18. *Пархоменко Ю. М.* Изучение взаимосвязи между содержанием тиаминфосфатов и активностью пируватдегидрогеназного комплекса в печени крыс с интенсифицированным липогенезом / Ю. М. Пархоменко, А. А. Рыбина, С. А. Климчук, А. Г. Халмурадов // *Укр. Биохим. журнал.* — 1983. — Т. 55. — С. 517–522.
19. *Sedlak J.* Estimation of total protein-bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent / J. Sedlak, R. H. Lindsay // *Anal. Biochem.* — 1968. — Т. 25. — P. 192–205.
20. *Фоменко А. И.* Механизм ингибирования никотиновой кислотой ацетил-СоА карбоксилазной реакции / А. И. Фоменко, С. В. Пожарун, С. И. Шушевич, А. Г. Халмурадов // *Биохимия.* — 1983. — 48. — С. 714–717.
21. *Островский Ю. М.* Тиамин / Ю. М. Островский // *Экспериментальная витаминология.* — Минск : Наука и техника, 1979. — С. 177–223.
22. *Донченко Г. В.* Эффект производных α -токоферола на содержание природных хинонов в тканях / Г. В. Донченко, В. Н. Коваленко, Е. Н. Забарная // *Биохимия.* — 1979. — 44. — С. 923–930.
23. *Лакин Г. Ф.* Биометрия / Г. Ф. Лакин. — М. : Высшая школа, 1990. — 351 с.
24. *Rolin X.* Short- and long-term nutritional modulation of acetyl-CoA carboxylase activity in selected tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) / X. Rolin, F. Medale, S. Gutierres et al // *Br. J. Nutr.* — 2003. — 89. — P. 803–810.

Рецензент: доктор с.-г. наук Рівіс Й. Ф.