

УДК [639.3.043.13:636.087.73]:[597-1.05:639.371.2]

ВПЛИВ ПЕКАРСЬКИХ ДРІЖДЖІВ НА СИСТЕМУ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ МОЛОДІ РОСІЙСЬКОГО ОСЕТРА (*Acipenser gueldenstaedtii Brandt*)

Симон М.Ю. – м. н. с.

Грициняк І.І. – академік НААН, професор, директор

Забитівський Ю.М. – заступник директора

Львівська дослідна станція

Інституту рибного господарства Національної академії аграрних наук

seemann.sm@gmail.com, info@if.org.ua, yurafish@ukr.net

Робота представляє результати досліджень впливу пекарських дріжджів на систему антиоксидантного захисту молоді російського осетра. Пекарські дріжджі після деактивації за допомогою низьких температур згодували риbam у якості біологічно активної добавки до стартового корму, після чого вивчали вплив різних концентрацій цих одноклітинних організмів на систему антиоксидантного захисту організму. Для цього використовували аналіз рівня активності ензимів системи антиоксидантного захисту та рівня накопичення продуктів пероксидного окиснення ліпідів у печінці та м'язах. Установлено, що дріжджі в цілому позитивно впливають на систему антиоксидантного захисту, і їх доцільно застосовувати в годівлі осетрів після переходу на екзогенне живлення.

Ключові слова: російський осетер (*Acipenser gueldenstaedtii Brandt*), пекарські дріжджі, годівля риб, система антиоксидантного захисту, оксидативний стрес, каталаза, супероксиддисмутаза, малоновий діальдегід, дієнові кон'югати.

Постановка проблеми. Система антиоксидантного захисту (далі – САЗ) відіграє одну з ключових ролей у життєдіяльності організму осетрів за рахунок регуляції нею низки метаболічних процесів. Використання оцінки її стану дає можливість отримувати кількісну інформацію про перебіг цих процесів. Отже, рівень активності САЗ в організмі молоді російського осетра в результаті впливу чинників ендogenousого й екзогенного характеру може виступати важливим показником адаптації організму до змін навколишнього середовища. Продукти перекисного окиснення ліпідів (далі – ПОЛ) також можуть бути використані як своєрідні біомаркери ушкодження тканин, оскільки за їх умістом можна судити про інтенсивність перебігу вільнорадикальних процесів у різних системах організму.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. На ранніх стадіях онтогенезу осетрових видів риб оксидативний стрес виникає через зміну енергетичних субстратів, наростання споживання кисню, підготовку до моменту вилуплення. У процесі постембріонального розвитку найбільш поширеною

причиною оксидативного стресу є інтенсифікація вирощування, яка супроводжується високою щільністю та контамінацією.

Одним із показників оксидативного стресу є інтенсифікація ПОЛ, яка характеризується фазними змінами вмісту малонового діальдегіду (МДА), рівня активності ензимів каталази (КАТ) і супероксиддисмутаз (СОД), що свідчать про активацію захисних механізмів у певні періоди інтоксикації [1, с. 134].

Оскільки під час оксидативного стресу активність САЗ інгібують прооксидантні процеси, це опосередковано сприяє запаленню та канцерогенезу, що зазвичай закінчуються летально [2, с. 9]. Однак постійне утворення прооксидантів в організмі врівноважене їх дезактивацією САЗ, дія якої спрямована на підтримання гомеостазу. У цілому робота САЗ проявляється з перших етапів онтогенезу, у результаті чого встановлюється чіткий баланс між інтенсивністю вільнорадикальних процесів, включно з ПОЛ і антиоксидантною активністю [1, с. 137]. Цей баланс відображає адаптаційні можливості організму до мінливих умов зовнішнього середовища, а отже, і його стійкість до дії несприятливих чинників, зокрема й до інтенсивного типу ведення аквакультури.

Загалом САЗ – це складний комплекс тканинно-специфічних інгібіторів вільнорадикального окиснення, який під час взаємодії з вільними радикалами утворює хімічно інертні сполуки, тим самим припиняючи ланцюгову реакцію [1, с. 142]. САЗ містить низько- та високомолекулярні сполуки, здатні «перехоплювати» вільні радикали чи нейтралізувати джерело їх виникнення. До її складу входять гідрофільні й гідрофобні органічні речовини з відновними властивостями, ензими, що підтримують гомеостаз цих речовин, зокрема такі, що інгібують пероксидні процеси. У нормі вона активується за досягнення концентрацією вільних радикалів певного кількісного порогу [2, с. 8].

Російському осетру притаманний відносно високий рівень САЗ порівняно з таким у ендотермних тварин (птахів і ссавців). Однак багато в чому він залежить від генетично закріпленої диференціації за рівнем толерантності до впливу різних стрес-чинників [3, с. 266]. Наприклад, у осетрових видів риб, порівняно з короповими, стрес починається раніше та проявляється гостріше. У нормі рівень активності САЗ російського осетра залежить від статі, етапу онтогенезу, раціону в конкретний проміжок часу, пори року [4, с. 7].

М'язи та печінка є класичними моделями для дослідження САЗ. У гепатоцитах концентруються білки САЗ, які запобігають токсичній дії як ендо-, так і екзогенних агентів. Крім того, у них присутня певна кількість ендogenous α -токоферолу, який впливає на інтенсивність перекисних окиснювальних процесів [5, с. 3]. Утім, варто підкреслити, що порівняно

з печінкою у м'язах нижчий вміст таких антиоксидантів, як СОД і токоферол. У той же час функція детоксикації, притаманна печінці, зумовлює більш високий рівень пероксидації та МДА, ніж у м'язах [6, с. 287]. Загалом активність САЗ у м'язах нижча, ніж у печінці, а в печінці менша за таку в еритроцитах.

Постановка завдання. Метою проведених досліджень було з'ясувати вплив сухих інстантних пекарських дріжджів, інактивованих заморожуванням, на систему антиоксидантного захисту молоді російського осетра у складі стандартного стартового комбікорму. Визначення оптимальної концентрації цих одноклітинних організмів у раціоні дає можливість протистояти оксидативному стресу, викликаному умовами інтенсивної аквакультури, тим самим підвищуючи ефективність вирощування риб.

Матеріал та методи. Для дослідження впливу пекарських дріжджів на систему антиоксидантного захисту молоді російського осетра була використана матеріально-технічна база ДП ДГ Львівської дослідної станції Інституту рибного господарства НААН.

Молодь російського осетра вирощували в установці замкнутого водопостачання (УЗВ), починаючи з четвертої доби після викльову. У віці 24 діб після переходу на екзогенне живлення її розділили на 3 групи, по 500 екземплярів у кожній. Контрольна група риб споживала сухий стартовий корм упродовж 30 діб. У якості біологічно активної добавки до основного стартового корму були використані дріжджі пекарські сухі інстантні (швидкорозчинні), що відповідають системі управління безпекою харчових продуктів згідно з міжнародним стандартом ISO 22000 та успішно пройшли сертифікацію. Їх інактивацію здійснювали за допомогою низьких температур (-80°C) упродовж трьох діб. У раціон дослідної групи № 1 додавали 5% сухих дріжджів від маси основного корму, а в раціон дослідної групи № 2 –15%.

Кожних 7 діб після початку експерименту відбирали 1 грам личинок із метою аналізу рівня активності ензимів системи антиоксидантного захисту та рівня накопичення продуктів пероксидного окиснення ліпідів. Для цього риб піддавали анестезії 0,2%-м розчином препарату «Пропісцин», після чого препарували печінку та м'язи, а отримані препарати вміщували в камеру глибокого заморожування (-80°C) рідким азотом. Після розморожування здійснювали гомогенізацію тканин, тобто для проведення біохімічних досліджень використовували 10% гомогенати.

Методику, описану Є.Є. Дубініною, застосовували для визначення активності супероксиддисмутази (СОД), спираючись на відсоток гальмування реакції відновлення нітросинього тетразолію в присутності феназинметасульфату [7, с. 32]. Активність каталази (КАТ) досліджували за зміною концентрації H_2O_2 , як було рекомендовано М.А. Королук [8, с. 17]. Концентрацію дієвих кон'югатів (ДК) вираховували за

методом, описаним І.І. Стальною, який ґрунтується на визначенні оптичної густини гептанізопропанольного екстракту ліпідів. Виявлення концентрації малонового діальдегіду (МДА) проводили згідно з методикою, викладеною С. Н. Корабейніковою, тобто спектрофотометрично, за кольоровою реакцією з тіобарбітуровою кислотою [3, с. 265].

Цифрові дані отриманих результатів опрацьовували методами варіаційної статистики за допомогою кореляційного й регресійного аналізу, використовуючи комп'ютерні програми «Microsoft Office Excel 2007» і «Statistica-6». Аналіз величин виконано за системою абсолютних значень. Критеріями аналізу показників були їхні середня величина та похибка ($M \pm m$), відхилення (σ), показник мінливості (C_v). Різниці між величинами вважали статистично вірогідними ($p < 0,05; 0,01$ і $0,001$).

Результати досліджень. Проведені дослідження виявляють суттєвий вплив інстантних пекарських дріжджів, використаних як кормова добавка, на САЗ молоді російського осетра. Це доводять зміни рівнів активності ензимів САЗ і вміст первинних і кінцевих продуктів ПОЛ у печінці та м'язах піддослідних риб.

Рівень активності КАТ (КФ 1.11.1.6) у печінці статистично достовірно підвищився, що виявляє захисно-адаптаційну реакцію, спрямовану на стримування ПОЛ клітинних мембран, а от у м'язах цей показник після 7 діб експериментальної годівлі в дослідній групі № 1 залишився без змін, а в дослідній групі № 2 – знизився на 50%, що свідчить про зниження активності ПОЛ (рис. 1).

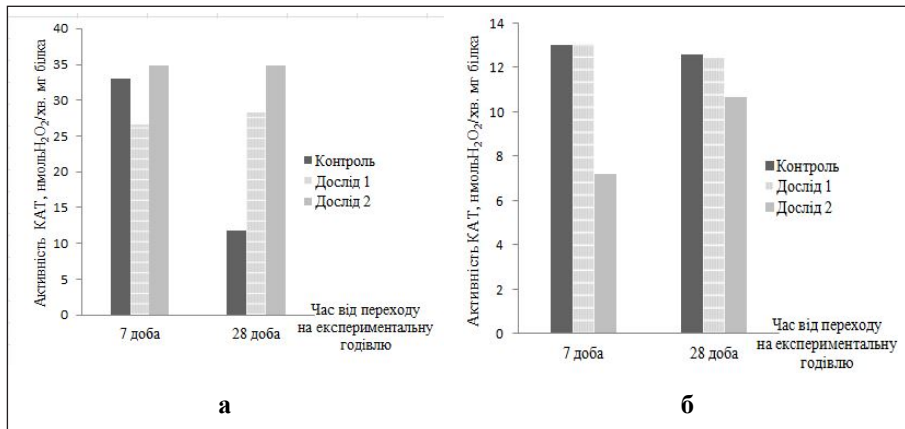


Рис. 1. Рівень активності каталази в печінці (а) та м'язах (б) молоді російського осетра ($M \pm m$, $n=15$)

Вірогідної зміни рівня активності каталази в печінці на 7 добу експериментальної годівлі немає. Однак після 20 діб експерименту спостерігається

дозозалежне зростання активності цього ензиму, що, очевидно, пов'язане зі зростанням у печінці гідроперекису водню, утвореного не в результаті діяльності СОД, а внаслідок інших процесів тканинного дихання, які активізуються за дії дріжджів. Причиною цьому є різке зростання кількості піридино-вих залишків із нуклеїнових кислот дріжджів і збільшення кількості матеріалу для коферменту дегідрогеназ – НАДФ⁺, які й активують тканинне дихання з виділенням пероксиду водню (C₁₅H₂₄O). Активність каталази у м'язах залишається практично без змін, що свідчить про відсутність стресового процесу в досліджуваній тканині за умов годівлі раціоном із 5% інактивованих дріжджів. Проте збільшення в раціоні мальків російського осетра дріжджів до 15% уже на сьому добу приводить до зниження оксидативних процесів.

Рівень активності СОД у печінці та м'язовій тканині впродовж семи діб істотно знизився. Так, у печінці на 28 добу експерименту в обох дослідних групах він зменшився втричі (рис. 2).

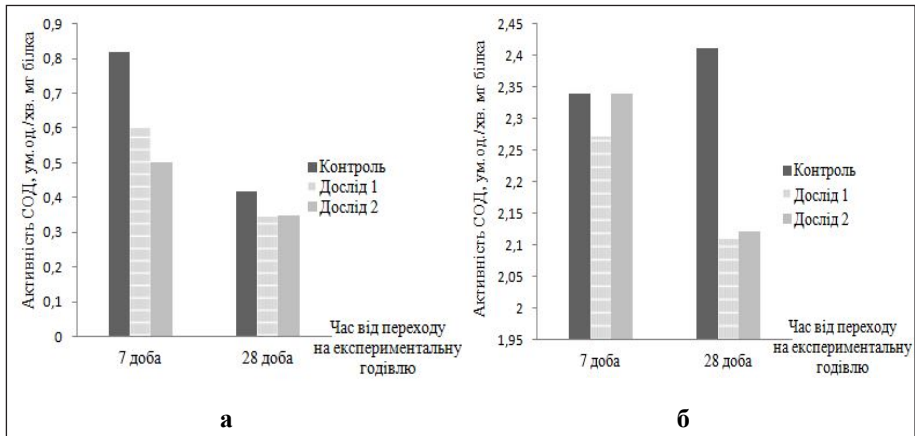


Рис. 2. Рівень активності супероксиддисмути в печінці (а) та м'язах (б) молоді російського осетра (M+m, n=15)

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

Вміст ДК (первинних продуктів ПОЛ) у печінці та м'язах в обох дослідних групах характеризує ранню стадію ПОЛ, спричиненого

адаптацією організму після настання метаморфозних змін травної системи, а також зростанням вмісту нуклеїнових кислот у раціоні. Через 20 діб експерименту оксидативний стрес дещо знижується, однак у печінці САЗ стабілізує їх вміст в обох дослідних групах, а у м'язовій тканині він усе ще високий.

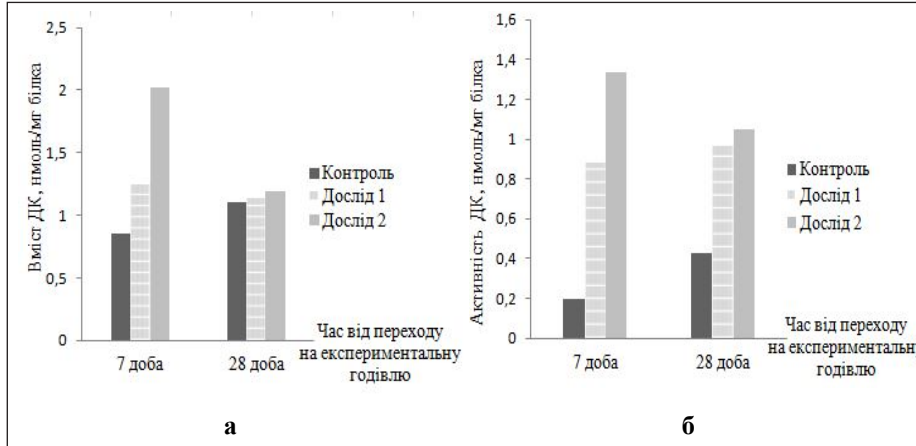


Рис. 3. Вміст дієнових кон'югатів у печінці (а) та м'язах (б) молоді російського осетра (M+m, n=15)

Рівень накопичення МДА (кінцевого продукту ПОЛ) у печінці та м'язах свідчить про активізацію перекисних процесів в організмі осетра (рис. 4).

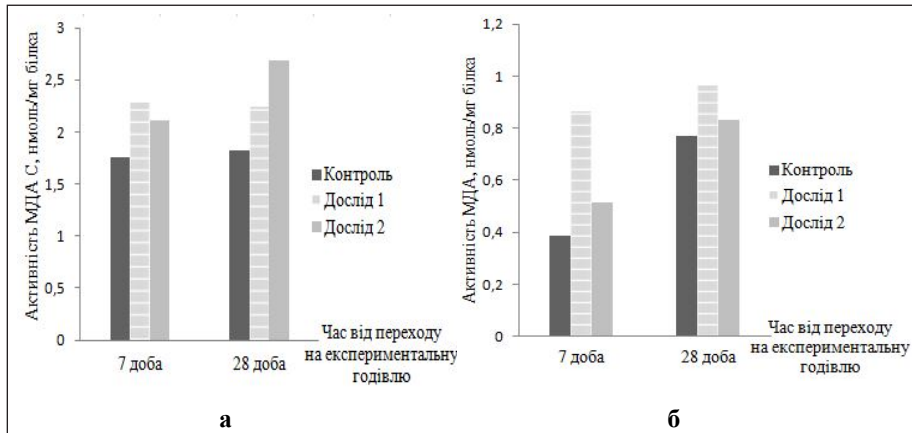


Рис. 4. Вміст малонового діальдегіду в печінці (а) та м'язах (б) молоді російського осетра (M+m, n=15)

Так, уміст МДА в м'язах на 7 добу експерименту підвищується майже на 34% у дослідній групі № 1 та на 20% – у дослідній групі № 2. Утім, на

28 добу цей показник практично не відрізняється від контролю в обох дослідних групах, що свідчить про стабілізацію окисних процесів в організмі.

Висновки з дослідження та перспективи подальшого розвитку в цьому напрямі. Оптимізація годівлі відповідно до умов утримання є першорядним завданням сучасного осетрівництва. У зв'язку із цим стан здоров'я молоді осетрових прямо пов'язаний зі здатністю комбікормів задовольнити всі потреби організму, зокрема забезпечити ефективну роботу САЗ. Це зумовлює актуальність досліджень перебігу процесів ПОЛ і дії САЗ за умов введення інактивованих пекарських дріжджів до стандартного стартового комбікорму для російського осетра.

Було доведено, що використання сухих інстантних пекарських дріжджів у годівлі молоді російського осетра на початкових етапах його онтогенезу є доцільним. Зокрема, для позитивного впливу на систему антиоксидантного захисту є сенс згодувати їх у кількості 15% від маси основного корму впродовж 7 діб від початку переходу на екзогенне живлення. Незначне накопичення первинних і кінцевих продуктів ПОЛ стабілізується на 28 добу експериментальної годівлі та нівелюється підвищенням рибицьких показників.

ВЛИЯНИЕ ПЕКАРСКИХ ДРОЖЖЕЙ НА СИСТЕМУ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ МОЛОДИ РУССКОГО ОСЕТРА (*Acipenser gueldenstaedtii Brandt*)

Симон М.Ю. – м. н. с.

Грициняк И.И. – профессор, академик

НААН України, директор

Забытиевский Ю.М. – заместитель директора

Львовская опытная станция Института рыбного хозяйства

Национальной академии аграрных наук

seemann.sm@gmail.com, info@if.org.ua, yurafish@ukr.net

Работа представляет результаты исследования влияния пекарских дрожжей на систему антиоксидантной защиты молодки русского осетра. Пекарские дрожжи после деактивации при помощи низких температур скармливали рыбам в качестве биологически активной добавки к стартовому корму, после чего изучали влияние различных концентраций этих одноклеточных организмов на систему антиоксидантной защиты организма. Для этого использовали анализ уровня активности энзимов системы антиоксидантной защиты и уровня накопления продуктов перекисного окисления липидов в печени и мышцах. Было установлено, что дрожжи в целом положительно влияют на систему антиоксидантной защиты, и их целесообразно применять в кормлении осетров в первое время после перехода на экзогенное питание.

Ключевые слова: русский осетр (*Acipenser gueldenstaedtii Brandt*), пекарские дрожжи, кормление рыб, система антиоксидантной защиты, оксидативный стресс, каталаза, супероксиддисмутаза, малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты.

INFLUENCE OF BAKER'S YEAST ON THE ANTIOXIDANT PROTECTION SYSTEM OF RUSSIAN STURGEON (*Acipenser guldenstaedtii* Brandt) FINGERLING

Symon M. Yu. – Junior Research Scientist

Hrytsyniak I.I. – Academician of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Director

*Zabytivskiy Yu.M. – Deputy Director of the Lviv Research Station of Institute of Fisheries of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
seemann.sm@gmail.com, info@if.org.ua, yurafish@ukr.net*

The paper presents the results of studies of the influence of baker's yeast on the antioxidant protection system of the Russian sturgeon fingerling. The baker's yeast, after being deactivated using low temperatures, was fed to the fish as a dietary supplement to the starter feed. After that, the effect of various concentrations of these single-celled organisms on the antioxidant defense system of the organism was studied. For this purpose, an analysis of the level of activity of enzymes of the antioxidant defense system and the level of accumulation of lipid peroxidation products in the liver and muscles was used. It was found that the yeast in general have a positive effect on the antioxidant system and they should be used in the feeding of sturgeon for the first time after the transition to exogenous feeding.

Key words: Russian sturgeon (*Acipenser guldenstaedtii* Brandt), baker's yeast, fish feeding, antioxidant protection system, oxidative stress, catalase, superoxide dismutase, malonic dialdehyde, diene conjugates.

ЛІТЕРАТУРА

1. Симон М.Ю. Особливості окисних процесів у осетрових видів риб (*Acipenseridae*) (огляд). *Рибогосподарська наука України*. 2016. № 4(38). С. 131–152.
2. Шахматова О.А. Использование показателей антиоксидантной системы гидробионтов в экологическом мониторинге (аналитический обзор). *Рибне господарство України*. 2009. № 1. С. 6–11.
3. Симон М.Ю. Вплив пекарських дріжджів на інтенсивність окисних процесів в печінці у молоді російського осетра (*Acipenser guldenstaedtii*). *Таврійський науковий вісник*. № 97. 2017. С. 265–271.
4. Гераскин П.П. Реакции организма каспийских осетровых (*Acipenseridae*) на загрязнение среды обитания: автореф. дис. на соискание науч. степени доктора биол. наук: специальность 03.03.01 «Физиология». Москва, 2013. 34 с.
5. Гераскин П.П. Влияние загрязнения северного Каспия на интенсивность перекисного окисления липидов и активность цитохромоксидазы печени и мышц осетровых рыб. *Вестник АГТУ. Сер.: Рыбное хозяйство*. 2010. № 2. С. 88–97.

6. Новоселова Ю.В., Дорохова И.И. Морфофизиологические и биохимические особенности печени рыб как индикатора их состояния в условиях антропогенного загрязнения. *Водні біоресурси і аквакультура* / За ред. І.І. Грициняка, М.В. Гринжевського, О.М. Третяка. К.: ДІА, 2010. С. 287–290.
7. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.Ф. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов. *Лабораторное дело*. 1983. № 10. С. 30–33.
8. Королюк М.А., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*. 1988. № 1. С. 16–18.

REFERENCES

1. Symon M.Ju. (2016). Osoblyvosti okysnyh procesiv u osetrovyh vydiv ryb (*Acipenseridae*) (ogljad). *Rybogospodars'ka nauka Ukrainy*. No 4(38). pp. 131-152. [in Ukrainian].
2. Shahmatova O.A. (2009). Yspol'zovanye pokazatelej antyoksydantnoj systemy gidrobyontov v ekologicheskom monitorynge (analytycheskyj obzor). *Rybne gospodarstvo Ukrainy*. No 1. pp.6-11. [in Ukrainian].
3. Symon M.Ju. (2017). Vplyv pekars'kyh drizhdzhiv na intensyvnist' okysnyh procesiv v pechnici u molodi rosijs'kogo osetra (*Acipenser guldenstaedtii*). *Tavrijs'kyj naukovyj visnyk*. No 97. pp. 265-271. [in Ukrainian].
4. Geraskin P.P. (2013). Reakcii organizma kaspijskih osetrovyh (*Acipenseridae*) na zagrjaznenie sredej obitaniija (Responses of the organism of Caspian sturgeon (*Acipenseridae*) to habitat pollution). Extended abstract of Doctor's thesis. Moscow. [in Russian].
5. Geraskin P.P. (2010). Vlijanie zagrjaznenija severnogo Kaspija na intensivnost' perekisnogo okislenija lipidov i aktivnost' citohromooksidazy pecheni i myshc osetrovyh ryb. *Vestnik AGTU*. Ser.: Rybnoe hozjajstvo. No 2. pp. 88-97. [in Russian].
6. Novoselova Ju.V., Dorohova I.I. (2010). Morfofiziologicheskie i biohimicheskie osobennosti pecheni ryb kak indikatora ih sostojanija v uslovijah antropogennogo zagrjaznenija. *Vodni bioresursi i akvakul'tura*. Kyiv: DIA. pp. 287-290. [in Russian].
7. Dubinina E.E., Sal'nikova L.F. (1983). Aktivnost' i izofermentnyj spektr superoksiddismutazi jeritrocitov. *Laboratornoe delo*. No 10. pp. 30-33. [in Russian].
8. Koroljuk M.A., Majorova I.G., Tokarev V.E. (1988). Metod opredelenija aktivnosti katalazy. *Laboratornoe delo*. No 1. pp. 16-18. [in Russian].