

DOI: 10.24143/2073-5529-2018-3-113-117
УДК 639.3.043.13

А. В. Котельников, С. В. Котельникова, А. Н. Неваленный,
Ю. М. Ширин, С. В. Пономарев

БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ НЕКОТОРЫХ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ ГИБРИДА ТИЛЯПИИ (*OREOCHROMIS SPP.*) ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРЕПАРАТА ЭС-2

Исследовано влияние добавления в корм экстракта сапропеля (препарат ЭС-2) на интенсивность перекисного окисления липидов в печени и жабрах гибрида тилляпии (*Oreochromis spp.*), а также на морфофункциональное состояние ее печени. Экстракт сапропеля вызывал снижение содержания ТБК-реактантов в тканях печени тилляпии на 17 % по сравнению с контролем. В жабрах биодобавка приводила к увеличению содержания перекисных продуктов на 24 %. Введение в корм рыб ЭС-2 привело к снижению скорости спонтанного и аскорбатзависимого перекисного окисления липидов в печени (на 18 %). В жабрах рыб под влиянием сапропеля возростала скорость спонтанного перекисного окисления липидов на 27 %, а аскорбатзависимого – на 23 %. Изменение интенсивности перекисных процессов под воздействием кормовой добавки в органах рыб тканеспецифично: в печени был отмечен антиоксидантный эффект, в жабрах прооксидантный. Введение экстракта сапропеля не приводит к изменению объема ядер клеток печени в опытных группах у тилляпии, в то время как средний объем клеток в экспериментальной группе оказался на 37 % ниже по сравнению с контролем. Снижение объема клетки привело к увеличению ядерно-цитоплазматического отношения в опыте в 1,9 раз по сравнению с контролем. Снижение объема цитоплазмы гепатоцитов и повышение ядерно-цитоплазматического отношения вследствие добавления в производственные биокорма гибрида тилляпии препарата ЭС-2 могут свидетельствовать об усилении функциональной активности клеток печени.

Ключевые слова: гибрид тилляпии (*Oreochromis spp.*), экстракт сапропеля, препарат ЭС-2, перекисное окисление липидов, морфометрические показатели, печень, жабры.

Введение

В настоящее время аквакультура является быстро развивающимся направлением производства пищевой продукции, за ее счет в мире производится около 40 % потребляемой в пищу рыбы. Развитие этой отрасли в России перспективно и является одним из приоритетных направлений современного народного хозяйства.

Между тем при искусственном выращивании рыбы высоки риски развития инфекционных заболеваний, ущерб от которых может достигать четверти общего объема полученной продукции [1]. Поскольку лечение заболеваний дорого, влияет на интенсивность набора массы рыбы и может влиять на качество продукции, особое значение приобретают профилактические мероприятия. Одним из способов снижения риска бактериальных инфекций является применение лечебно-профилактических кормов. Вводимые в корма добавки должны быть физиологичны и не должны влиять на скорость набора массы тела рыбы и биохимические показатели получаемой продукции.

Одним из критериев адаптационного потенциала организма рыбы, позволяющим оценить состояние защитно-приспособительных сил при воздействии как повреждающих агентов [2, 3], так и биологически активных веществ, экологических факторов, а также при различных функциональных состояниях организма [4, 5], является перекисное окисление липидов (ПОЛ).

Целью настоящей работы стало изучение влияния лечебно-профилактического препарата ЭС-2 на перекисные процессы в некоторых органах тилляпии и морфометрические показатели ее печени.

Материал и методы исследования

Эксперимент по изучению влияния лечебно-профилактического препарата ЭС-2 (экстракт сапропеля) в составе производственных комбикормов на морфометрические и биохимические показатели тилляпии был проведен в Инновационном центре и лаборатории «Физиология питания рыб» Астраханского государственного технического университета.

Половозрелые гибриды тилапии *Oreochromis spp.* содержались по 15 особей в аквариумах объемом 20 л с искусственной аэрацией, фильтрацией и подогревом (27 °С). Корм задавался вручную 3 раза в сутки.

Экстракт сапропеля – это биологически активный лечебно-профилактический препарат, полученный путем экстракции из сапропеля, добытого в озерах Омской области, разработанный ЗАНПО «Вега-2000 – Сибирская органика» совместно с учеными Омского аграрного университета. Под его воздействием показана нормализация минерального обмена веществ, стимуляция кроветворения, иммунных и гормональных реакций [6].

Интенсивность перекисного окисления определяли в печени и жабрах рыб по содержанию в гомогенатах тканей малонового диальдегида (МДА), а также по скорости спонтанного и аскорбатзависимого окисления. Содержание МДА определяли тиобарбитуровым методом [7].

С учетом того, что препарат поступал внутрь организма, была выполнена морфометрическая оценка состояния печени для определения ее функционального состояния. Анализ проводился на парафиновых срезах толщиной 7 мкм, окрашенных гематоксилином-эозином. Все измерения зафиксированы на микрофотографиях, выполненных на микроскопе Olympus BX 53. Измерения были переведены в мкм с помощью объект-микрометра. Были рассчитаны объемы ядер и клеток печени, а также ядерно-цитоплазматическое отношение. Расчет объемов ядер осуществлялся по формуле эллипсоида вращения:

$$V = \frac{\pi}{6} d_1^2 d_2,$$

где d_1 и d_2 – наибольший и наименьший диаметры ядра, $d_1 > d_2$. Аналогичным образом были определены объемы клеток.

Полученные данные статистически обработаны с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Содержание МДА в жабрах и печени рыб контрольной группы практически не отличалось, составляя 1,2 нмоль МДА/500 мг ткани (табл. 1).

Таблица 1

Содержание малонового диальдегида в органах тилапии

Орган	Группа	Содержание МДА, нмоль МДА/500 мг ткани		
		спонтанное	аскорбатзависимое	исходное
Печень	Контроль	6,68 ± 0,069	7,13 ± 0,363	1,21 ± 0,042
	Опыт	5,54 ± 0,101*	5,91 ± 0,143**	1,00 ± 0,021***
Жабры	Контроль	8,34 ± 0,306^	9,46 ± 0,158 ^	1,28 ± 0,021
	Опыт	10,56 ± 0,507*** ^	11,63 ± 0,400* ^	1,59 ± 0,038* ^

* Отличия опыта от контроля по критерию Стьюдента: $p < 0,001$; ** $p < 0,05$; *** $p < 0,01$; «^» отличия уровня ПОЛ в органах: $p < 0,001$.

Однако в жабрах скорость спонтанного перекисного окисления была на 25 %, а аскорбатзависимого на 33 % выше, чем в печени ($p < 0,001$ для обоих сравнений), что связано с более тесным контактом органа с внешней средой.

Добавка экстракта сапропеля в корм рыб привела к снижению как исходного содержания МДА ($p < 0,01$), так и спонтанного ($p < 0,001$) и аскорбатзависимого ПОЛ ($p < 0,001$) в ткани печени: на 17 % по сравнению с контролем. В жабрах, напротив, экстракт вызвал повышение как исходного содержания МДА – на 24 % ($p < 0,001$), так и увеличение перекисных продуктов в результате спонтанного (на 27 %, $p < 0,01$) и аскорбатзависимого ПОЛ (на 23 %, $p < 0,001$).

Действие биологически активных веществ препарата ЭС-2 на перекисные процессы в органах рыб тканеспецифично: в печени по всем изученным показателям был отмечен антиоксидантный эффект, в то время как в жабрах, напротив, прооксидантный. Увеличение концентрации ТБК-реактантов в жабрах рыб опытной группы может быть следствием не столько действия

препарата, сколько опосредованным результатом интенсификации метаболизма, а следовательно, и выведения его продуктов через жабры в условиях аквариумного содержания. Для рыб опытной группы были характерны более высокие приросты массы и длины, коэффициенты упитанности рыб [8]. В то же время жабры достаточно чувствительны к повышенному содержанию аммиака и на его увеличение реагируют усилением перекисных процессов [9].

Морфометрический анализ печени тилапии выявил влияние биологически активного препарата на ультраструктуру органа. В печени рыб контрольной группы клетки крупные, полигональной формы, с мелкими жировыми пустотами в цитоплазме. Ядра в основном были крупными, светлыми, округлой формы, с одним, реже двумя ядрышками. Имелись также и безъядерные клетки.

В экспериментальной группе встречалось несколько видов гепатоцитов. Одни – крупные, со светлыми ядрами, другие мелкие, содержащие темные ядра, и безъядерные клетки. Ядра располагались как в центре клетки, так и были смещены к периферии.

Объем ядер клеток печени контрольной и опытной групп не отличался, в то время как средний объем клеток в опыте оказался на 37 % ниже по сравнению с таковым в контрольной группе ($p < 0,05$) (табл. 2).

Таблица 2

Морфометрические показатели печени

Группа	Объем ядра, мкм ³	Объем клетки, мкм ³	Ядерно-цитоплазматическое соотношение, × 10 ²
Контроль	34,8 ± 1,97	1961,6 ± 213,6	2,7 ± 0,27
Опыт	36,2 ± 2,43	1238,4 ± 171,5*	5,0 ± 0,60**

* Отличия опыта от контроля по критерию Стьюдента, $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Снижение объема клетки привело к увеличению ядерно-цитоплазматического отношения в опыте в 1,9 раз по отношению к контролю ($p < 0,01$).

Ядерно-цитоплазматическое отношение считают надежным и объективным показателем оценки прижизненного состояния клетки, в значительной мере дополняющим анализ структурно-функциональной системы ядра и цитоплазмы [10]. Возрастание ядерно-цитоплазматического отношения при сохранении объема ядра может быть следствием интенсивного роста рыбы и, в связи с этим, усиления пролиферативных процессов в ткани печени.

Заключение

Добавление лечебно-профилактического препарата ЭС-2 (экстракт сапропеля) в продукционные комбикорма гибрида тилапии приводит к снижению интенсивности перекисных процессов в печени рыб и увеличению продуктов перекисного окисления липидов в жабрах.

Морфометрический анализ печени свидетельствует о снижении объема цитоплазмы гепатоцитов и повышении ядерно-цитоплазматического отношения, что может указывать на усиление функциональной активности клеток печени.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Воронин В. Н., Кузнецова В. Н., Стрелков Ю. А., Чернышева Н. Б. Болезни рыб в аквакультуре России: практ. рук. СПб.: Изд-во ГосНИОРХ, 2011. 263 с.
2. Силкина Н. И., Микряков В. Р. Состояние процессов перекисного окисления липидов и антирадикальной системы тканей рыб при воздействии фенола и нафталина // Токсиколог. вестн. 2006. № 3. С. 19–23.
3. Козлова Н. В., Каниева Н. А. Перекисное окисление липидов в мышцах осетровых рыб под влиянием химических веществ // Фундаментальные исследования. 2006. № 9. С. 7.
4. Пудовкин Н. А., Гарипов Т. В. Перекисное окисление липидов в организме рыб // Вестн. ветеринарии. 2014. Т. 71. № 4. С. 50–52.
5. Микряков Д. В., Силкина Н. И. Влияние условий содержания ввремя зимовки на некоторые показатели морфофункционального и биохимического состояния карпов *Cyprinus carpio* // Рыбоводство и рыбное хозяйство. 2011. № 2. С. 58–60.
6. Компания «РЕСПЕКТ». Пищевые ингредиенты, кормовые добавки. URL: <http://www.zaorespect.ru> (дата обращения: 30.05.2018).

7. Строев Е. А., Макарова В. Г. Практикум по биологической химии. М.: Высш. шк., 1986. 232 с.
8. Ширина Ю. М., Котельников А. В., Аблеев Д. Р., Пономарев С. В., Федоровых Ю. В. Влияние лечебно-профилактического препарата ЭС-2 на функциональное состояние гибрида тилапии *Oreochromis spp.* // Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та. Сер.: Рыб. хоз-во. 2017. № 2. С. 130–136.
9. Абросимова Е. Б. Особенности аммиачной интоксикации рыб в интенсивной аквакультуре: дис. ... канд. биол. наук. Астрахань, 2009. 131 с.
10. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. М.: Медицина, 1990. 380 с.

Статья поступила в редакцию 15.06.2018

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Котельников Андрей Вячеславович – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный технический университет; г-р биол. наук, доцент; профессор кафедры гидробиологии и общей экологии; kotas@inbox.ru.

Котельникова Светлана Владимировна – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный технический университет; г-р биол. наук, доцент; профессор кафедры гидробиологии и общей экологии; kotas@inbox.ru.

Неваленный Александр Николаевич – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный технический университет; г-р биол. наук, профессор; профессор кафедры гидробиологии и общей экологии; astu@astu.org.

Ширина Юлия Михайловна – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный технический университет; канд. с.-х. наук, доцент; доцент кафедры рыбоводства и рыболовства; uliabakaneva@yandex.ru.

Пonomarev Сергей Владимирович – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный технический университет; г-р биол. наук, профессор; профессор кафедры рыбоводства и рыболовства; kafavb@yandex.ru.



A. V. Kotelnikov, S. V. Kotelnikova, A. N. Nevalennyu, Yu. M. Shirina, S. V. Ponomarev

BIOCHEMICAL AND MORPHOMETRIC PARAMETERS OF SOME ORGANS AND TISSUES OF HYBRID TILAPIA (*OREOCHROMIS SPP.*) FOR GROWING WITH USE OF PREPARATION ES-2

Abstract. The article studies the effect of addition into the feed of Saproel extract (ES-2 preparation) on the intensity of lipid peroxidation in the liver and gills of hybrid tilapia (*Oreochromis spp.*), as well as on the morphofunctional state of its liver. Saproel extract caused a decrease in the content of TBA-reactants in the tissues of tilapia liver by 17% compared to the control group. In gills the bioadditive resulted in the increased content of peroxide products by 24%. The introduction of ES-2 in fish feed resulted in reduction of spontaneous and ascorbate-dependent lipid peroxidation rate in the liver by 18%. In the gills of fish, under the influence of Saproel, the rate of spontaneous lipid peroxidation increased by 27%, the rate of ascorbate-dependent lipid peroxidation - by 23%. The change in the intensity of peroxide processes under the influence of the fodder additive in fish organs is tissue-specific: antioxidant effect was recorded in the liver, prooxidant effect was observed in the gills. The introduction of the Saproel extract does not lead to a change in the volume of liver nuclei in the test groups of tilapia, while the average cell volume in the experimental group was 37% lower than in the control group. The decrease in cell volume led to the increase in the nuclear-cytoplasmic ratio by 1.9 times in the experimental group compared to the control group. Hepatocyte cytoplasm volume decrease and nuclear-cytoplasmic ratio increase due to addition of ES-2 preparation into productive feed of hybrid tilapia would indicate a rise of functional activity of liver cells.

Key words: hybrid tilapia (*Oreochromis spp.*), Saproel extract, ES-2 preparation, lipid peroxidation, morphometric parameters, liver, gills.

REFERENSES

1. Voronin V. N., Kuznetsova V. N., Strelkov Iu. A., Chernysheva N. B. *Bolezni ryb v akvakul'ture Rossii: prakticheskoe rukovodstvo* [Fish diseases in aquaculture of Russia: manual]. Saint-Petersburg, Izd-vo GosNI-ORKh, 2011. 263 p.
2. Silkina N. I., Mikriakov V. R. Sostoianie protsessov perekisnogo okisleniia lipidov i antiradikal'noi sistemy tkanei ryb pri vozdeistvii fenola i naftalina [Processes of lipid peroxidation and antiradical system of fish tissues under the action of phenol and naphthalene]. *Toksikologicheskii vestnik*, 2006, no. 3, pp. 19-23.
3. Kozlova N. V., Kanieva N. A. Perekisnoe okislenie lipidov v myshtsakh osetrovyykh ryb pod vlianiem khimicheskikh veshchestv [Lipid peroxidation in sturgeon species muscles under the action of chemicals]. *Fundamental'nye issledovaniia*, 2006, no. 9, pp. 7.
4. Pudovkin N. A., Garipov T. V. Perekisnoe okislenie lipidov v organizme ryb [Lipid peroxidation in fish organism]. *Vestnik veterinarii*, 2014, vol. 71, no. 4, pp. 50-52.
5. Mikriakov D. V., Silkina N. I. Vliianie uslovii soderzhaniia vovremia zimovki na nekotorye pokazateli morfofunktsional'nogo i biokhimicheskogo sostoianiia karpov *Cyprinus carpio* [Influence of living environment in wintering on specific parameters of morphofunctional and biochemical state of Carp *Cyprinus carpio*]. *Rybovodstvo i rybnoe khoziaistvo*, 2011, no. 2, pp. 58-60.
6. *Kompaniia «RESPEKT». Pishchevye ingredienty, kormovye dobavki* [RESPECT Company. Food ingredients and additives]. Available at: <http://www.zaorespect.ru> (accessed: 30.05.2018).
7. Stroev E. A., Makarova V. G. *Praktikum po biologicheskoi khimii* [Manual on biological chemistry]. Moscow, Vysshiaia shkola Publ., 1986. 232 p.
8. Shirina Iu. M., Kotelnikov A. V., Ableev D. R., Ponomarev S. V., Fedorovykh Iu. V. Vliianie lecheno-profilakticheskogo preparata ES-2 na funktsional'noe sostoianie gibrida tiliapii *Oreochromis spp.* [Influence of ES-2 medioprofilactic preparation on functional state of hybrid tilapia *Oreochromis spp.*]. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriia: Rybnoe khoziaistvo*, 2017, no. 2, pp. 130-136.
9. Abrosimova E. B. *Osobennosti ammiachnoi intoksikatsii ryb v intensivnoi akvakul'ture: dis. ... kand. biol. nauk* [Specific features of ammoniac intoxication of fish in intensive aquaculture: diss. ... Cand. Biol. Sci.]. Astrakhan, 2009. 131 p.
10. Avtandilov G. G. *Meditsinskaia morfometriia* [Medical morphometry]. Moscow, Meditsina Publ., 1990. 380 p.

The article submitted to the editors 15.06.2018

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Kotelnikov Andrey Vjacheslavovich – Russia, 414056, Astrakhan; Astrakhan State Technical University; Doctor of Biology, Assistant Professor; Professor of the Department of Hydrobiology and General Ecology; kotas@inbox.ru.

Kotelnikova Svetlana Vladimirovna – Russia, 414056, Astrakhan; Astrakhan State Technical University; Doctor of Biology, Assistant Professor; Professor of the Department of Hydrobiology and General Ecology; kotas@inbox.ru.

Nevalenny Alexander Nikolaevich – Russia, 414056, Astrakhan; Astrakhan State Technical University; Doctor of Biology, Professor; Professor of the Department of Hydrobiology and General Ecology; astu@astu.org.

Shirina Yulia Mikhailovna – Russia, 414056, Astrakhan; Astrakhan State Technical University; Candidate of Agricultural Sciences, Assistant Professor; Assistant Professor of the Department of Fish Farming and Fishery; uliabakaneva@yandex.ru.

Ponomarev Sergey Vladimirovich – Russia, 414056, Astrakhan; Astrakhan State Technical University; Doctor of Biology, Professor; Professor of the Department of Fish Farming and Fishery; kafavb@yandex.ru.

