

УДК 636.98:577.161.1

ПЕРОКСИДНІ ПРОЦЕСИ У ТКАНИНАХ ТА ВІДТВОРНА ЗДАТНІСТЬ КОРОПІВ-ПЛІДНИКІВ ЗА РІЗНОГО РІВНЯ ВІТАМІНУ А В КОМБІКОРМІ

М. Б. Малетич
maletich21@ukr.net

Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААН,
вул. Грушевського, 5, с. Оброшино, Львівська обл., Пустомитівський р-н, 81115, Україна

Вирощування товарної риби і збільшення її продуктивності є важливим завданням у рибництві. Збереження товарних одиниць, швидкий приріст маси, загальний вихід личинок, висока стійкість до захворювань є актуальною проблемою рибництва України. Це зумовлено низкою етіологічних факторів, що призводить до порушення росту й обміну речовин в організмі риб. Причиною цих порушень може бути нестача вітамінів, зокрема вітаміну А.

Завданням роботи було дослідити вплив підвищеної кількості вітаміну А в раціоні на активність ензимів антиоксидантного захисту і вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у тканинах та відтворну здатність коропів-плідників. Дослід проведено в переднерестовий період на трьох групах коропів-плідників. Коропи контрольної групи отримували стандартний гранульований комбікорм. Коропи-плідники дослідних груп додатково отримували в складі цього комбікорму ретинілацетат.

Встановлено, що у печінці та скелетних м'язах самиць і самців коропів-плідників, які в переднерестовий період у складі стандартного гранульованого комбікорму додатково отримували вітамін А в кількості 2500 і 5000 ІО/кг корму, вірогідно та дозозалежно підвищується активність основних ензимів системи антиоксидантного захисту — супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази та каталази. За цих умов у печінці самиць коропів-плідників вірогідно та дозозалежно знижується рівень диснових кон'югатів і малонового діальдегіду, а в скелетних м'язах самиць коропів-плідників та печінці і скелетних м'язах самців коропів-плідників — диснових кон'югатів, гідропероксидів ліпідів і малонового діальдегіду. У самиць коропів-плідників, яким у переднерестовий період у складі стандартного гранульованого комбікорму додатково згодовували вітамін А в кількості 2500 і 5000 ІО/кг корму, вірогідно та дозозалежно підвищується робоча та відносна плодючість, а у самців — об'єм молоків. При цьому вірогідно та дозозалежно зростає вихід личинок із ікри.

Ключові слова: КОРОПИ-ПЛІДНИКИ, ЕНЗИМИ, ЛІПІДИ, ПЕРОКСИДНІ ПРОЦЕСИ, ВІДТВОРНА ЗДАТНІСТЬ, ПЛОДЮЧІСТЬ, РЕТИНІЛАЦЕТАТ

PEROXIDATION PROCESSES IN TISSUES AND REPRODUCTIVE ABILITY OF CARPS-SIRES WITH DIFFERENT LEVELS OF VITAMIN A IN FODDER

М. Maletich
maletich21@ukr.net

Institute of agriculture in the Carpathian region NAAS,
5 Grushevskiyi str., Obroshino village, Pustomyty district, Lviv region, 81115, Ukraine

Breeding of commodity fish and increasing its productivity are important problems in fish farming. Preservation of product units, rapid weight gain, total release of larvae, high resistance to diseases are the actual problems of fish farming in Ukraine due to a number of etiological factors which lead to disruption of growth and metabolism in fish body. These disorders can be caused by lack of vitamins, particularly vitamin A.

The aim of this research was to investigate the effect of increased amount of vitamin A in the diet on the activity of antioxidant enzymes and the content of the products of lipid peroxidation in tissues and the reproductive ability of carps-sires. Research was conducted in the pre-spawning period in three groups of carps-sires. The carps of control group received standard pelleted feed. The carps-sires of research group received retinylacetate in the composition of the above-mentioned feed.

It was found that in skeletal muscle of female and male carps-sires of the experimental group which in the pre-spawning period received vitamin A in the amount of 2500 and 5000 IU/kg diet as part of standard granulated feed the activity of the main enzymes of antioxidant protection (superoxide dismutase, glutathione

peroxidase and catalase) increased significantly and dose-dependently. Under these conditions the level of diene conjugates and malonic dialdehyde in the liver of female carp-sires and the level of diene conjugates hydroperoxides lipids and malonic dialdehyde in the skeletal muscle of female carp-sires and in liver and skeletal muscles of male carp-sires reduced dose-dependently and significantly. In the pre-spawning period in carps of the experimental groups which were fed additionally with vitamin A in the amount of 2500 and 5000 IU/kg of fodder as part of standard granulated feed the working and relative fecundity in female carps-sires and the volume of milts in males increased significantly and dose-dependently. The release of larvae from eggs increases too.

Keywords: CARPS-SIRES, ENZYMES, LIPIDS, PEROXIDATION PROCESSES, REPRODUCTIVE ABILITY, FECUNDITY, RETINYLACETATE

ПЕРОКСИДНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ТКАНЯХ И ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНАЯ СПОСОБНОСТЬ КАРПОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ПРИ РАЗНОМ УРОВНЕ ВИТАМИНА А В КОМБИКОРМЕ

М. Б. Малетич
maletich21@ukr.net

Институт сельского хозяйства Карпатского региона НААН,
ул. Грушевского, 5, с. Оброшино, Львовская обл., Пустомитовський р-н, 81115, Украина

Выращивание товарной рыбы и увеличение ее производительности является важным заданием в рыбоводстве. Сохранение товарных единиц, быстрый прирост массы, общий выход личинок, высокая стойкость к заболеваниям является актуальной проблемой рыбоводства Украины. Это предопределено рядом этиологических факторов, которые приводят к нарушению роста и обмена веществ в организме рыб. Причиной этих нарушений может быть недостаток витаминов, в частности витамина А.

Заданием было исследовать влияние повышенного количества витамина А в рационе на активность энзимов антиоксидантной защиты и содержание продуктов пероксидного окисления липидов в тканях и воспроизводительную способность карпов-производителей. Опыт проведен в преднерестовый период на трех группах карпов-производителей. Карпы контрольной группы получали стандартный гранулированный комбикорм. Карпы-производители опытных групп дополнительно в составе упомянутого выше комбикорма получали ретинилацетат.

Установлено, что в печени и скелетных мышцах самок и самцов карпов-производителей, которые в преднерестовый период в составе стандартного гранулированного комбикорма дополнительно получали витамин А в количестве 2500 и 5000 IU/kg корма, достоверно и дозозависимо повышается активность основных энзимов системы антиоксидантной защиты — супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы. При этих условиях в печени самок карпов-производителей достоверно и дозозависимо снижается уровень диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, а в скелетных мышцах самок карпов-производителей и печени и скелетных мышцах самцов карпов-производителей — диеновых конъюгатов, гидропероксида липидов и малонового диальдегида. У самок карпов-производителей, которым в преднерестовый период в составе стандартного гранулированного комбикорма дополнительно скармливали витамин А в количестве 2500 и 5000 IU/kg корма, достоверно и дозозависимо повышается рабочая и относительная плодовитость, а у самцов — объем молок. При этом достоверно и дозозависимо растет выход личинок из икры.

Ключевые слова: КАРПЫ-ПРОИЗВОДИТЕЛИ, ЭНЗИМЫ, ЛИПИДЫ, ПЕРОКСИДНЫЕ ПРОЦЕССЫ, ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНАЯ СПОСОБНОСТЬ, ПЛОДОВИТОСТЬ, РЕТИНИЛАЦЕТАТ

Життєдіяльність, ріст та харчова цінність м'яса ставкових риб, зокрема коропів, значною мірою залежить від забезпечення їх потреби у вітамінах. Серед останніх особливе місце займає вітамін А [1, 2]. Наведений

вище вітамін впливає на зорову, репродуктивну, антиоксидантну та імунну функції організму риб. Крім того, вітамін А здійснює вплив на різні ланки обмінних процесів в організмі ставкових риб [3].

Вміст вітаміну А в крові, органах і тканинах ставкових риб, зокрема коропів, значно коливається залежно від його вмісту в раціоні [4]. Дефіцит вітаміну А в раціоні призводить до пригнічення обмінних процесів в організмі та зниження інтенсивності росту та відтворної здатності коропів [5].

Невирішеними залишаються питання впливу підвищеної кількості вітаміну А в раціоні на пероксидні процеси в тканинах та відтворну здатність коропів-плідників.

Метою роботи було дослідити вплив підвищеної кількості вітаміну А в комбікормі на активність ензимів антиоксидантного захисту і вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у тканинах та відтворну здатність коропів-плідників.

Матеріали і методи

Дослід провели на ставах Львівської дослідної станції Інституту рибного господарства НААН. Усі втручання та забій риб проводилися з дотриманням вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001).

Були сформовані три групи любинських лускатих коропів-плідників (*Cyprinus carpio* L.) шестирічного віку по десять самиць та самців у кожній групі. Кожна група коропів-плідників утримувалася в ставках з незалежним водопостачанням. У ставках періодично визначали чисельність та біомасу природного корму — зообентосу. Коропи кожної групи щоденно о 8⁰⁰ ранку впродовж одного місяця отримували стандартний гранульований комбікорм К 111–2 з 50 %-ним вмістом протеїну в розрахунку 4 % від маси тіла. Перша група коропів (контрольна) отримувала наведений вище комбікорм з нанесеною на нього соняшниковою олією в кількості 3 %. Друга та третя група коропів (дослідні) додатково отримували у складі цього комбікорму ретинілацетат (виробництво ЗАТ «Технолог», м. Умань). Останній наносили на комбікорм у тій же кількості, як

і соняшникову олію. Причому коропи першої та другої дослідних груп отримували комбікорм, на який було нанесено, відповідно, 2500 і 5000 ІО/кг вітаміну А.

Наприкінці досліду рибу було виловлено зі ставків траловим методом. Від виловлених самиць і самців із кожної групи гормонально-індукованим методом було отримано, відповідно, ікру та молоки. Визначали абсолютну та відносну плодючість самиць із кожної групи, а також кількість молоків, отриманих від самців з кожної групи. Одночасно визначали вихід заплідненої ікри від самок із кожної групи. Запліднену в лабораторних умовах ікру інкубували в апаратах Вейса.

Після декапітації чотирьох самиць і самців із кожної групи для лабораторних досліджень були відібрані зразки печінки та скелетних м'язів. У відібраних зразках печінки та скелетних м'язів коропів-плідників визначали активність супероксиддисмутази за Є. Є. Дубініною зі співр. [6], каталази за М. А. Королюк та ін. [7] і глутатіонпероксидази за В. М. Моїним [8] та вміст дієнових кон'югатів, гідропероксидів ліпідів за В. В. Мирончиком [9] і малонового діальдегіду за С. Н. Коробейниковою [10].

Отриманий цифровий матеріал було оброблено методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента. Виразувалися середні арифметичні величини (М), помилки середніх величин ($\pm m$) і вірогідність різниці між середніми величинами (Р). Зміни вважалися вірогідними за $P < 0,05$. Для розрахунків використано стандартний пакет комп'ютерних статистичних програм *Origin 6.0, Excel (Microsoft, USA)*.

Результати й обговорення

З наведених у *Таблицях 1 і 2* даних видно, що в печінці та скелетних м'язах самиць і самців коропів-плідників першої та другої дослідних груп, які в переднерестовий період у складі стандартного гранульованого комбікорму отримували додаткові кількості вітаміну А, порівняно з печінкою та скелетними м'язами самиць і самців коропів-плідників контрольної групи, які отримували

Таблиця 1

Активність ензимів антиоксидантного захисту в тканинах самиць коропів-плідників за різного рівня вітаміну А в комбікормі, $M \pm m$, $n=4$

Досліджувані ензими	Групи риб		
	Контрольна (OP)	I дослідна (OP + 2500 Ю вітаміну А в комбікормі)	II дослідна (OP + 5000 Ю вітаміну А в комбікормі)
Печінка			
Супероксиддисмутаза, у.од./мг білка	7,83±0,071	8,23±0,054**	8,35±0,038***
Глутатіонпероксидаза, нмоль/хв/мг білка	2,37±0,037	2,57±0,038**	2,62±0,030**
Каталаза, ммоль/хв/мг білка	4,48±0,090	4,96±0,103**	5,15±0,075**
Скелетні м'язи			
Супероксиддисмутаза, у.од./мг білка	6,07±0,117	6,36±0,061*	6,45±0,049*
Глутатіонпероксидаза, нмоль/хв/мг білка	2,39±0,047	2,83±0,125*	2,95±0,129**
Каталаза, ммоль/хв/мг білка	4,66±0,090	5,11±0,080*	5,20±0,062**

Таблиця 2

Активність ензимів антиоксидантного захисту в тканинах самців коропів-плідників за різного рівня вітаміну А в комбікормі, $M \pm m$, $n=4$

Досліджувані ензими	Групи риб		
	Контрольна (OP)	I дослідна (OP + 2500 Ю вітаміну А в комбікормі)	II дослідна (OP + 5000 Ю вітаміну А в комбікормі)
Печінка			
Супероксиддисмутаза, у.од./мг білка	7,11±0,123	7,56±0,047*	7,64±0,040**
Глутатіонпероксидаза, нмоль/хв/мг білка	2,14±0,064	2,57±0,098*	2,67±0,088**
Каталаза, ммоль/хв/мг білка	4,19±0,083	4,69±0,085**	4,78±0,078**
Скелетні м'язи			
Супероксиддисмутаза, у.од./мг білка	5,92±0,102	6,37±0,063**	6,50±0,060**
Глутатіонпероксидаза, нмоль/хв/мг білка	2,12±0,047	2,43±0,052**	2,53±0,066**
Каталаза, ммоль/хв/мг білка	4,21±0,076	4,59±0,046**	4,66±0,051**

ли комбікорм без добавок, вірогідно та дозозалежно підвищується активність основних ензимів системи антиоксидантного захисту — супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази та каталази.

Підвищення активності основних ензимів системи антиоксидантного захисту у тканинах самиць і самців коропів-плідників, яким у переднерестовий період у складі стандартного гранульованого комбікорму згодували додаткові кількості вітаміну А, призводить до зміни рівня в них первинних і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів — диенових кон'югатів, гідроперексидів ліпідів і малонового диальдегіду.

З Таблиці 3 видно, що у печінці самиць коропів-плідників першої та другої до-

слідних груп, яким у переднерестовий період у складі стандартного гранульованого комбікорму згодували додаткові кількості вітаміну А, порівняно з печінкою самиць коропів-плідників контрольної групи, яким згодували стандартний гранульований комбікорм без добавок, вірогідно та дозозалежно знижується рівень диенових кон'югатів і малонового диальдегіду. При цьому вміст гідроперексидів ліпідів в їх печінці має тенденцію до зменшення. У скелетних м'язах самиць коропів-плідників першої та другої дослідних груп, порівняно зі скелетними м'язами самиць коропів контрольної групи, вірогідно та дозозалежно зменшується концентрація диенових кон'югатів, гідроперексидів і малонового диальдегіду (Табл. 3).

З *Таблиці 4* видно, що у печінці та скелетних м'язах самців коропів-плідників першої та другої дослідних груп, яким у переднерестовий період у складі стандартного гранульованого комбікорму згодували додаткові кількості вітаміну А, порівняно з печінкою та скелетними м'язами самців коропів контрольної групи, які отримували стандартний гранульований комбікорм без добавок, вірогідно та дозозалежно зменшується концентрація дієнових кон'югатів, гідропероксидів ліпідів і малонового діальдегіду.

Підвищення активності основних ензимів системи антиоксидантного захисту та зменшення вмісту первинних і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у тканинах самиць і самців коропів-плідни-

ків, яким у переднерестовий період у складі стандартного гранульованого комбікорму згодували додаткові кількості вітаміну А, приводить до покращення їх відтворної здатності. З *Таблиці 5* видно, що у самиць коропів-плідників першої та другої дослідних груп, яким у переднерестовий період у складі стандартного гранульованого комбікорму згодували додаткові кількості вітаміну А, порівняно з самками коропів-плідників контрольної групи, яким згодували стандартний гранульований комбікорм без добавок, вірогідно та дозозалежно підвищується робоча та відносна плодючість, а у самців коропів-плідників — об'єм молоків. При цьому вірогідно та дозозалежно зростає вихід личинок з ікри.

Таблиця 3

Рівень продуктів пероксидного окиснення ліпідів у тканинах самиць коропів-плідників за різного рівня вітаміну А в комбікормі, $M \pm m$, $n=4$

Досліджувані показники	Групи риб		
	Контрольна (OP)	I дослідна (OP + 2500 IO вітаміну А в комбікормі)	II дослідна (OP + 5000 IO вітаміну А в комбікормі)
Печінка			
Дієнові кон'югати, мкмоль/кг тканини	125,22±4,294	102,52±4,200**	97,12±4,183**
Гідропероксиди ліпідів, од. опт. густ./мг білка	8,67±0,193	7,82±0,175	7,42±0,125
Малоновий діальдегід, ммоль/г тканини	12,95±0,225	11,70±0,219**	11,27±0,228**
Скелетні м'язи			
Дієнові кон'югати, мкмоль/кг тканини	125,15±2,873	112,00±2,404*	108,45±2,040**
Гідропероксиди ліпідів, од. опт. густ./мг білка	4,32±0,062	4,02±0,047**	3,95±0,047**
Малоновий діальдегід, ммоль/г тканини	8,67±0,143	8,15±0,064*	8,05±0,064**

Таблиця 4

Рівень продуктів пероксидного окиснення ліпідів у тканинах самців коропів-плідників за різного рівня вітаміну А в комбікормі, $M \pm m$, $n=4$

Досліджувані показники	Групи риб		
	Контрольна (OP)	I дослідна (OP + 2500 IO вітаміну А в комбікормі)	II дослідна (OP + 5000 IO вітаміну А в комбікормі)
Печінка			
Дієнові кон'югати, мкмоль/кг тканини	107,97±1,728	98,62±2,022*	96,27±2,228**
Гідропероксиди ліпідів, од. опт. густ./мг білка	4,10±0,081	3,80±0,040*	3,75±0,028**
Малоновий діальдегід, ммоль/г тканини	10,75±0,25	9,35±0,239**	9,10±0,216**
Скелетні м'язи			
Дієнові кон'югати, мкмоль/кг тканини	111,00±2,191	99,02±2,434*	96,35±2,378**
Гідропероксиди ліпідів, од. опт. густ./мг білка	4,00±0,081	3,60±0,091*	3,55±0,086**
Малоновий діальдегід, ммоль/г тканини	8,00±0,163	7,42±0,085*	7,32±0,085*

Відтворна здатність коропів-плідників за різного рівня вітаміну А в комбікормі, $M \pm m$, $n=10$

Показники	Групи риб		
	Контрольна (OP)	I дослідна (OP + 2500 IO вітаміну А в комбікормі)	II дослідна (OP + 5000 IO вітаміну А в комбікормі)
Робоча плодючість у самиць коропів-плідників, тис. ікринок	669,1±10,01	709,4±6,23**	719,5±6,97**
Відносна плодючість у самиць коропів-плідників, тис. ікринок	92,4±2,82	115,9±4,93**	119,8±4,52**
Об'єм молоків у самців коропів-плідників, мл	24,6±0,66	28,4±0,57**	29,4±0,68***
Вихід личинок із ікри, %	70,1±0,47	72,9±0,32**	73,4±0,27***

Висновки

1. У печінці та скелетних м'язах самиць і самців коропів-плідників, які у переднерестовий період в складі стандартного гранульованого комбікорму додатково отримували вітамін А у кількості 2500 і 5000 IO/кг корму, вірогідно та дозозалежно підвищується активність основних ензимів системи антиоксидантного захисту — супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази та каталази.

2. У печінці самиць коропів-плідників, яким у переднерестовий період у складі стандартного гранульованого комбікорму додатково згодували вітамін А в кількості 2500 і 5000 IO/кг корму, вірогідно та дозозалежно знижується рівень дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду. У скелетних м'язах самиць коропів-плідників та печінці і скелетних м'язах самців коропів-плідників за наведених вище умов вірогідно та дозозалежно зменшується концентрація дієнових кон'югатів, гідропероксидів ліпідів і малонового діальдегіду.

3. У самиць коропів-плідників, яким у переднерестовий період у складі стандартного гранульованого комбікорму додатково згодували вітамін А в кількості 2500 і 5000 IO/кг корму, вірогідно та дозозалежно підвищується робоча та відносна плодючість, а у самців — об'єм молоків. При цьому вірогідно та дозозалежно зростає вихід личинок із ікри.

Перспективи подальших досліджень.

У подальшому планується дослідити питання впливу підвищеної кількості вітаміну А в раціоні на ліпідний склад тканин коропів-плідників.

1. Hrytsyniak I. I. Scientific and practical foundations of rational feeding fish. Kyiv, My Fish, 2007, 306 p. — ISBN 978-966-2990-02-7. (in Ukrainian)

2. Smolianinov K. B., Vishchur O. I., Oleksiuk N. P., Popyk I. M. Effect of vitamin A supplementation in the diet of carp to content peroxidation products and antioxidant status of the system in their body. *Bulletin ZHNAEU*, 2012, vol. 2 (33), t. 2, p. 205–207. (in Ukrainian)

3. Claggett-Dame M., Knutson D. Vitamin A in reproduction and development. *Nutrients*. 2011, № 3, p. 385–428.

4. Zheltov Yu. A. Guidelines for the conduct of experiments on feeding fish. *Fisheries*, K., 2003, Vol. 62, pp. 23–28 (in Ukrainian).

5. Vorobev D. V., Yskra T. D., Kyryllov N. V., Vorobev V. Y. Physiological and biochemical bases for the use of trace elements in aquaculture. Astrakhan, OOO TsNTЭВ, 2008, 360 p. (in Russian)

6. Dubynyna E. E., Salnykova L. Ia., Efymova L. F. Activity of SOD and co-ferment range of erythrocytes. *Lab. Deal.* 1983, № 10, p. 30–33. (in Russian)

7. Koroliuk M. A., Yvanova L. Y., Maiorova Y. H., Tokarev V. E. Method for determination of catalase activity. *Lab. Deal.* 1988, № 1, pp. 16–18. (in Russian)

8. Moyn V. M. Simple and specific method for determining the activity of glutathione peroxidase in erythrocytes. *Lab. Deal.* 1986, № 12, pp. 724–727. (in Russian)

9. Popyk I. M., Smolianinov K. B., Vishchur O. I., Oleksiuk N. P. Lipid metabolism and status of antioxidant defense system in the body carp depending on the level of vitamin A. *Scientific Bulletin LNUVMBT behalf S. Z. Gzhytskyi*. 2012, vol. 14, № 3 (53), part 1, pp. 240–244. (in Ukrainian)

10. Maslianko R. P., Oleksiuk I. I., Padovskyi A. I. Guidelines for the evaluation of control of the immune status of animals: the determinants of non-specific resistance mechanisms litynyh and humoral immunity against infectious diseases. *Lviv*, 2001, 87 p. (in Ukrainian)