

# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ, МОРФОЛОГИЯ И МЕДИЦИНА

УДК 577.1:597.442 - 13

## УТИЛИЗАЦИЯ КАРОТИНОИДОВ В ПРОЦЕССЕ ЭМБРИОГЕНЕЗА И РАННЕГО ПОСТЭМБРИОГЕНЕЗА ДОНСКОЙ СТЕРЛЯДИ

*Сергей Сергеевич Абросимов*, кандидат биологических наук, доцент кафедры водных-биоресурсов и аквакультуры

Филиал Московского государственного университета технологий и управления  
в г. Ростове-на-Дону (РО МГУТУ),  
344007, г. Ростов-на-Дону, пр. Семашко, 55,  
тел. (863) 2 999-081, e-mail: abrosimovss@yandex.ru

*Показано, что неоплодотворенная икра стерляди насыщена каротиноидами –  $\beta$ -каротином и зеаксантином. В процессе развития икры до выгуления содержание каротиноидов уменьшилось в 1,8 раза по сравнению с их уровнем в икре. По мере развития предличинки до стадии перехода на эндогенное питание уровень каротиноидов уменьшился в 4,7 раза по сравнению с икрой и в 2,6 раза по сравнению с предличинкой на выгулении.*

*Утилизация каротиноидов в процессе развития и роста эмбрионов и личинок согласуется с активным расходом липидов в этот период, что свидетельствует о повышении интенсивности энергетического обмена. Содержание липидов у эмбрионов по сравнению с икрой уменьшилось в 1,5 раза, а у личинок при переходе на активное питание – в 3,2 раза.*

*Выявленные спектры поглощения каротиноидов из этанольных экстрактов неоплодотворенной икры, предличинок и личинок стерляди в видимой области соответствуют  $\beta$ -каротину и зеаксантину, антиоксидантная активность которых в 50 и более раз выше наиболее сильного антиоксиданта  $\alpha$ -токоферола. Причем по мере развития стерляди интенсивность полос поглощения в образцах последовательно снижалась.*

*Приведенные данные свидетельствуют об участии каротиноидов в метаболизме развивающейся икры и личинки в качестве одной из составных частей антиоксидантной защиты организма.*

**Ключевые слова:** *стерлядь, неоплодотворенная икра, предличинка, личинка, каротиноиды, функции, антиоксиданты, свободнорадикальное окисление,  $\beta$ -каротин, зеаксантин, липиды, утилизация.*

## UTILIZATION OF CAROTINOIDS BY THE DON STERLET AT ITS EMBRYOGENESIS AND EARLY POSTEMBRYOGENESIS STAGES

*Abrosimov Sergey S.*

*Branch of the Moscow state university of technology and management in Rostov-on-Don,  
344007, Rostov-on-Don, Semashko av., 55,  
ph. (863) 2 999-081, abrosimovss@yandex.ru*

*Unfertilized eggs of sturgeon are shown to be rich in carotenoids, namely  $\beta$ -carotin and zeaxanthin. The concentration of carotenoids during the eggs development up to the larvae hatching decreased 1.8 times versus its initial level. When the prelarvae changed over to endogenous feeding, the level of carotenoids decreased 4.7 times comparing to their level in the eggs and 2.6 times as against the level in the prelarvae at the stage of their hatching.*

*Utilization of carotenoids by the embryos and larvae during their development and growth was consistent with evidence of the active consumption of lipids at that period, which points to increased energetic metabolism. The content of lipids in embryos decreased 1.5 times compared to that in the eggs, and 3.2 times in the larvae transferred to the active feeding.*

*The analysis of the ethanol extracts obtained from the unfertilized sterlet eggs, prelarvae and larvae has shown that the carotenoid absorption spectra correspond to those of  $\beta$ -carotin and zeaxanthin whose antioxidant*

*activity is 50 times or more higher than the activity of the most strong antioxidant  $\alpha$ -tocopherol. The intensity of absorption bands lowered gradually with the fish development within the samples.*

*The data presented allows one to say that carotenoids participate in the metabolism of developing eggs and larvae as one of constituents of the antioxidant organism protection.*

**Key words:** *sterlet, unfertilized eggs, prelarvae, larvae, carotenoids, functions, antioxidants,  $\beta$ -carotin, zeaxanthin, lipids, utilization.*

Каротиноиды – наиболее широко распространенный класс природных пигментов. Они повсеместно обнаружены в растениях, входят в состав клеток микроорганизмов, а также клеток животных и человека. Многообразие и распространенность каротиноидов обусловлены их способностью принимать участие в различных обменных процессах организма. По современным представлениям функция каротиноидов заключается в обеспечении физиологических особенностей взаимодействия организма со средой.

Каротиноиды вовлекаются в различные защитные механизмы. Благодаря наличию сопряженных двойных связей, они могут связывать синглетный кислород, ингибируя образование свободных радикалов и предупреждая их негативное действие на организм. Они обеспечивают защиту от ультрафиолетового излучения, так как могут трансформировать энергию УФ-света в видимый свет, что проявляется в явлении флуоресценции, и выступают в роли антиоксидантов, защищая чувствительные ткани и лабильные соединения от окисления.

Одна из важнейших функций каротиноидов – А-провитаминная активность. Животные и человек не способны синтезировать витамин А, который является незаменимым для зрения, роста, репродукции для защиты от различных бактериальных и грибковых заболеваний и для нормального функционирования кожи и слизистых. Витамин А не образуется в растительных тканях и может быть получен только путем преобразования провитамин-А активных каротиноидов, прежде всего  $\beta$ -каротина.

Установлена иммуностимулирующая роль каротиноидов. Так, рыбы с высоким содержанием каротиноидов в организме значительно более устойчивы к инфекционным и грибковым заболеваниям.

Большинство перечисленных функций каротиноидов характерно и для рыб. Роль каротиноидов в пигментации рыб не вызывает сомнения и наиболее полно представлена в монографии А.Е. Микулина [5]. Окраска имеет большое значение в жизни этих животных. Благодаря покровительственной окраске, они становятся менее заметными в том или ином грунте. Большое значение имеет и брачный наряд. Хроматофоры рыб преимущественно содержат лютеин и астаксантин. Отмечено участие каротиноидов в таких физиологических процессах, как рост и размножение. Об этом свидетельствует их довольно высокая концентрация в личинках, яйцеклетках, семенниках и молоках, в икре многих видов рыб. Многие авторы указывают на более высокую оплодотворяемость сильно пигментированной икры по сравнению со слабо пигментированной.

Все это в первую очередь свидетельствует о важной функциональной значимости каротиноидов икры в эмбриональный период развития. По данным А.А. Яржомбека [8], воздействие тепла, света и радиации на развивающуюся икру лососевых рыб увеличивает расход пигментов, что может свидетельствовать об их участии в процессе фотосенсибилизации (фотоокислительного повреждения).

В последнее время все больше исследователей обращают внимание на закономерную связь между интенсивностью каротиноидной пигментации икры и зародышей рыб с кислородными условиями их развития. Установлено, что икра тех видов рыб, развитие которых происходит в плохих кислородных условиях, визуально имеет большую каротиновую пигментацию, чем икра, развивающаяся в хороших кислородных условиях [1; 5]. Эти данные позволили некоторым авторам утверждать о наличии дыхательной функции каротиноидов икры рыб.

Участие каротиноидов в окислительно-восстановительных процессах подтверждает присутствие их в мозге рыб, особенно устойчивых к недостатку кислорода в среде обитания (сазан, карп, вьюн обыкновенный).

Являясь антиоксидантами, каротиноиды могут влиять на интенсивность перекисного окисления липидов.

Установлено, что «...антиоксидантная активность  $\beta$ -каротина, выражающаяся в дезактивации синглетного кислорода, в 50 раз выше наиболее сильного антиоксиданта  $\alpha$ -токоферола. При этом антиоксидантная активность каротиноидов возрастает в ряду: каротины ( $\beta$ -каротины), гидроксикаротиноиды (лютеин, зеаксантин), антиоксидантная активность астаксантина в 100 раз выше, чем  $\alpha$ -токоферола» [5].

Последние исследователи свидетельствуют, что каротиноиды принимают участие в водно-солевом метаболизме икры через кальциевый обмен. Это подтверждают полученные данные об изменении интенсивности поглощения света каротиноидами икры под влиянием меняющихся концентраций кислорода и солей, данные о наличии кальция в эфирных вытяжках каротиноидных пигментов из икры [5].

Однако, несмотря на важную роль каротиноидов в различных физиологических процессах, без которых жизнь в существующей форме была бы невозможна, многие аспекты физиологических функций каротиноидов остаются невыясненными до конца.

Изучение каротиноидов осложняется их высокой реактивностью, обусловленной структурой молекул, в основе которых лежит полиеновая цепь двойных связей.

Количество пигментов в икре зависит от их поступления от самки в процессе формирования и созревания ооцитов и имеет видовую специфичность. По определению А.Е. Микулина [5], это позволяет оценить содержание в икре пигментов и их качественный состав в зависимости от специфичных для разных видов рыб эмбрионального развития, а также от внешних факторов среды.

О значении каротиноидных пигментов в жизни осетровых известно недостаточно. Литературные данные в основном ограничиваются исследованиями А.А. Яржомбека [7], Б. Чечуги [9] и нашими данными о каротиноидах русского осетра [1]. Количество каротиноидных пигментов в икре осетровых довольно высоко, хотя и меньше, чем у лососевых. Желтый каротиноид зеаксантин маскируется черным пигментом меланином. Более зрелая икра осетра богаче пигментами и более устойчива к неблагоприятным условиям, чем икра севрюги. У дунайской стерляди в икре также был обнаружен зеаксантин. В яичниках выявлено присутствие  $\beta$ -каротина. У русского осетра в икре выявлены  $\beta$ -каротин, зеаксантин и лютеин.

Таким образом, несмотря на имеющиеся сведения, биологическая роль и значение каротиноидных пигментов в жизни донской стерляди, в том числе и в процессе эмбриогенеза, не изучены.

Развитие интенсивной аквакультуры, в том числе искусственного воспроизводства осетровых рыб, требует особого внимания к кормам и кормлению как важнейшим факторам успешного выращивания рыб. Следует отметить, что липиды рыб содержат более высокое, чем млекопитающие, количество ненасыщенных жирных кислот. Это делает их чувствительными к процессам перекисного окисления липидов и зависимыми от поступления биоантиоксидантов с пищей.

Ранее мы отмечали необходимость введения в комбикорма биологически активных компонентов, способствующих повышению или стабилизации антиокислительной активности организма [2]. Особенно это важно в раннем постэмбриогенезе осетровых рыб, когда их защитная система не сформирована, в частности, активность антиокислительных ферментов незначительна [3], чем и объясняется наибольшая гибель предличинок до полного завершения перехода на активное питание. Следовательно, в этот период основная защитная роль в организме принадлежит неферментным или структурным антиоксидантам, к числу которых относятся некоторые витамины, аминокислоты, природные пигменты и другие биологически активные соединения, способствующие поддержанию равновесия прооксиданты  $\rightleftharpoons$  СРО  $\rightleftharpoons$  антиоксиданты.

В наших ранних работах [1] на примере русского осетра была показана зависимость расхода каротиноидных пигментов от интенсивности белкового и липидного обменов, снижение антиокислительной активности организма на фоне уменьшения уровня каротиноидов в эмбриональный период развития.

Полученные данные свидетельствуют об участии каротиноидов в метаболизме развивающейся икры и личинки в качестве одной из составных частей антиоксидантной защиты организма, что подтверждается выявленной тесной положительной корреляцией между уровнем каротиноидов и относительным содержанием различных групп веществ в исследованных объектах, которая описывается экспоненциальной моделью вида с высокой степенью корреляции:

$$Y = \exp(a+bX),$$

где  $Y$  – содержание группы веществ, в % сырого вещества,

$X$  – содержание каротиноидов, мг/100 г сырого вещества.

Известно, что различные неблагоприятные внешние и внутренние факторы, в том числе повышение концентрации эндо- и экзометаболитов, стимулируют общий обмен и свободнорадикальное окисление [6]. Это обусловлено необходимостью поддержания энергообмена на относительно высоком уровне для обеспечения функционирования адаптационных механизмов.

Однако образующиеся в процессе свободнорадикального окисления липоперекиси создают опасность разрушения митохондриальных мембран и окисления фосфолипидов, что может привести к снижению активности дыхательных ферментов и блокированию энергетических процессов в клетке. В этих условиях важная роль в регуляции гомеостаза организма принадлежит антиоксидантам, ингибирующим реакции свободнорадикального окисления. Как отмечали ранее, в период развития икры и эндогенного питания личинок осетра антиоксидантная защита определяется неферментными и структурными биоантиокислителями. С усилением активности свободнорадикального окисления наблюдается снижение активности антиоксидантных систем за счет расхода антиоксидантов на нейтрализацию свободных радикалов или инактивацию инициаторов окисления.

Для определения спектра и динамики содержания каротиноидов у стерляди в раннем онтогенезе изучали данные показатели в неоплодотворенной икре, предличинках на стадии вылупления и личинках на стадии перехода на активное питание.

Инкубирование икры осуществляли в аппаратах «Осетр». Предличинки после вылупления выдерживали в пластиковых бассейнах ИЦА-2 ( $S = 4 \text{ м}^2$ ) в количестве 8–10 тыс./ $\text{м}^2$ . При переходе на плав (начало активного питания) личинок переводили в пластиковые бассейны ИЦА-1 ( $S = 1 \text{ м}^2$ ) с плотностью посадки 4 тыс./ $\text{м}^2$ .

Определение концентрации каротиноидов в исследуемых объектах проводили по методике В.Н. Карнаухова [4]. Для экстракции каротиноидных пигментов использовали этанол. Спектры поглощения этанольных экстрактов регистрировали с помощью спектрофотометра «СФ-46» в кювете толщиной 1 см для определения оптической плотности каротиноидов в максимуме поглощения в области 450–460 нм. Удельную концентрацию ( $C$ ) общих каротиноидов (мг/100 г сырой ткани) вычисляли по формуле:

$$C = 0,4 D V / P,$$

где  $D$  – оптическая плотность экстракта каротиноидов,  $V$  – полный объем растворителя, в котором экстрагированы каротиноиды, мл,  $P$  – сырой вес образца (ткани), г.

Содержание каротиноидов в неоплодотворенной икре стерляди составило 1,47 мг на 100 г сырой ткани (рис. 1).

При вылуплении у стерляди содержание каротиноидов уменьшилось до 0,82 мг на 100 г сырой ткани, то есть в 1,8 раза по сравнению с их уровнем в икре. По мере развития предличинки, на стадии перехода на эндогенное питание уровень каротиноидов уменьшился до 0,31 мг на 100 г сырой ткани. Следовательно, расход каротиноидов увеличился в 4,7 раза по сравнению с икрой и в 2,6 раза по сравнению с предличинкой на вылуплении.

Рост скорости утилизации каротиноидов во время роста и развития предличинок может быть обусловлен увеличением интенсивности общего обмена и, соответственно, перекисного окисления липидов вследствие естественного повышения температуры воды на 1,5–2 °С и усиления энергетического обмена.

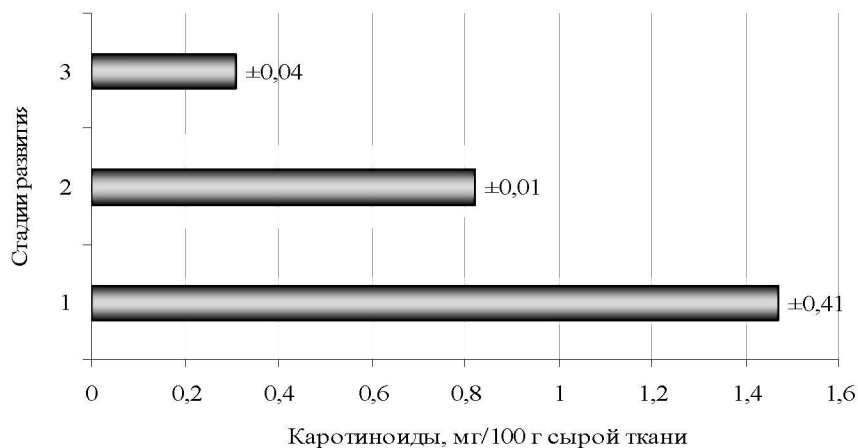


Рис. 1. Концентрация каротиноидов в икре, предличинке и личинке стерляди, мг/100 г сырой ткани

Температура среды является одним из основных факторов, регулирующих интенсивность метаболизма. Очевидно, наблюдаемое А.А. Яржомбеком [8] увеличение расхода каротиноидов в развивающейся икре лососевых при повышении температуры воды справедливо и для осетровых рыб.

О повышении интенсивности энергетического обмена в процессе развития эмбриона и личинки свидетельствует активный расход липидов в этот период, о чем свидетельствует снижение их содержания соответственно в 1,5 и 3,2 раза по сравнению с икрой.

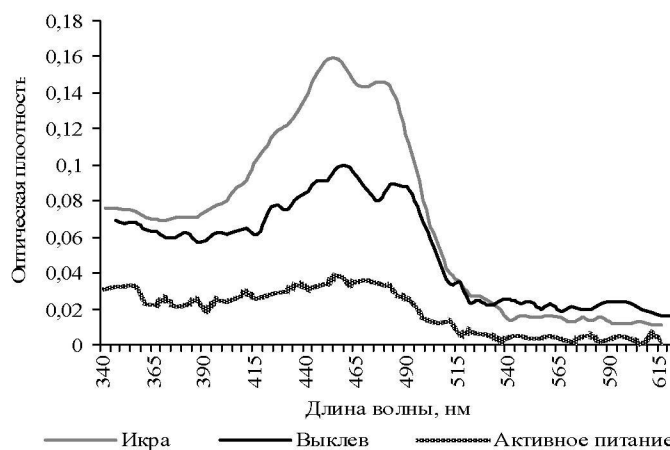


Рис. 2. Спектры поглощения этанольных экстрактов в сырой ткани стерляди в раннем онтогенезе

Исследования этанольных экстрактов из неоплодотворенной икры, предличинок и личинок стерляди выявили характерные для каротиноидов спектры поглощения в видимой области спектра, имеющие перегибы на длинах волн 425–430, 450–455, 480–485 нм, соответствующие β-каротину и зеаксантину. Причем интенсивность по-

лос поглощения в образцах по мере развития стерляди последовательно снижалась. При этом в большей степени снижалась интенсивность поглощения полос, характерных для β-каротина и зеаксантина (рис. 2).

Таким образом, на основании собственных и литературных данных можно сделать вывод, что утилизация каротиноидов в развивающейся икре и личинке за счет активных β-каротина и зеаксантина является следствием участия их в процессах свободнорадикального окисления, в частности перекисного окисления липидов, в качестве одной из составных частей антиоксидантной защиты организма – регуляторов этого окисления – антиоксидантов.

#### *Список литературы*

1. **Абросимов С. С.** Влияние каротиноидов на рост и состояние ранней молоди сеvrjуги (*Acipenser stellatus* Pall.) / С. С. Абросимов // *Естественные науки*. – 2003. – № 10 (10). – С. 52–59.
2. **Абросимов С. С.** Роль каротиноидов в эмбриональном развитии осетра / С. С. Абросимов, А. А. Бирюкова // *Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азово-Черноморского бассейна* : сб. науч. тр. АзНИИРХ (1996–1997 гг.). – Ростов н/Д. : АзНИИРХ, 1998. – С. 323–331.
3. **Дудкин С. И.** Антиокислительная активность в раннем онтогенезе русского осетра *Acipenser guldenstadti* Br. / С. И. Дудкин, Г. В. Гарагуля // *Тез. докл. IV Всесоюз. конф. по раннему онтогенезу рыб*. – М. : ВНИЭРХ, 1988. – Ч. 1. – С. 85–87.
4. **Карнаухов В. Н.** Биологические функции каротиноидов / В. Н. Карнаухов. – М. : Наука, 1988. – 241 с.
5. **Микулин Е. А.** Функциональное значение пигментов и пигментации в онтогенезе рыб / Е. А. Микулин. – М. : ВНИРО, 2000. – 232 с.
6. **Прайор У.** Роль свободнорадикальных реакций в биологических системах / У. Прайор // *Свободные радикалы в биологии*. – М. : Мир, 1979. – С. 13–67.
7. **Яржомбек А. А.** Каротиноиды лососевых и их связь с воспроизводством этих рыб / А. А. Яржомбек // ВНИРО. – 1970. – Т. 69. – С. 234–267.
8. **Яржомбек А. А.** Каротиноиды у лососевых и осетровых / А. А. Яржомбек // ВНИРО. – 1964. – Вып. 5. – С. 8–10.
9. **Czczuga B.** Carotenoids in fish. Carotenoids in the eggs of *Acipenser ruthenus ruthenus* L. (*Acipenseridae*) from the Danube / B. Czczuga // *Hidrobiologia*. – 1972. – Vol. 39, № 1. – P. 9–16.

#### *References*

1. **Abrosimov S. S.** Vkljanie karotinoidov na rost i sostojanie rannej molodi sevrjugi (*Acipenser stellatus* Pall.) / S. S. Abrosimov // *Estestvennye nauki*. – 2003. – № 10 (10). – S. 52–59.
2. **Abrosimov S. S.** Rol' karotinoidov v jembrional'nom razvitii osetra / S. S. Abrosimov, A. A. Biryukova // *Osnovnye problemy rybnogo hozjastva i ohrany rybohozjastvennyh vodoemov Azovsko-Chernomorskogo bassejna* : sb. nauch. tr. AzNIIRH (1996–1997 гг.). – Rostov n/D. : AzNIIRH, 1998. – S. 323–331.
3. **Dudkin S. I.** Antiokislitel'naja aktivnost' v ranнем ontogeneze russkogo osetra *Acipenser guldenstadti* Br. / S. I. Dudkin, G. V. Garagulya // *Tez. dokl. IV Vsesojuz. konf. po rannemu ontogenezy ryb*. – M. : VNIJeRH, 1988. – Ch. 1. – S. 85–87.
4. **Karnauhov V. N.** Biologicheskie funkicii karotinoidov / V. N. Karnauhov. – M. : Nauka, 1988. – 241 s.
5. **Mikulin E. A.** Funkcional'noe znachenie pigmentov i pigmentacii v ontogeneze ryb / E. A. Mikulin. – M. : VNIRO, 2000. – 232 s.
6. **Prajor U.** Rol' svobodnoradikal'nyh reakcij v biologicheskikh sistemah / U. Prajor // *Svobodnye radikaly v biologii*. – M. : Mir, 1979. – S. 13–67.
7. **Yarzhombek A. A.** Karotinoidy lososevyh i ih svjaz' s vosproizvodstvom jetih ryb / A. A. Yarzhombek // VNIRO. – 1970. – T. 69. – S. 234–267.
8. **Yarzhombek A. A.** Karotinoidy u lososevyh i osetrovyyh / A. A. Yarzhombek // VNIRO. – 1964. – Vyp. 5. – S. 8–10.
9. **Czczuga B.** Carotenoids in fish. Carotenoids in the eggs of *Acipenser ruthenus ruthenus* L. (*Acipenseridae*) from the Danube / B. Czczuga // *Hidrobiologia*. – 1972. – Vol. 39, № 1. – P. 9–16.