

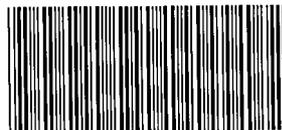
На правах рукописи



**КЕБЕРЛАЙН ОЛЬГА ВЛАДИМИРОВНА**

**ВЛИЯНИЕ АКТИВНЫХ КИСЛОРОДНЫХ МЕТАБОЛИТОВ  
НА ЭМБРИОГЕНЕЗ АЛТАЙСКОГО ЗЕРКАЛЬНОГО КАРПА**

06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных,  
патология, онкология и морфология животных



**005056586**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**6 ДЕК 2012**

Саранск – 2012

Работа выполнена на кафедре зоологии и методики обучения биологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Новосибирский государственный педагогический университет»

- Научный руководитель:** доктор биологических наук  
**Сахаров Андрей Валентинович**
- Официальные оппоненты:** доктор биологических наук, профессор  
**Кузьмичева Лидия Васильевна**  
профессор кафедры биохимии ФГБОУ ВПО  
«Мордовский государственный университет  
им. Н. П. Огарёва», г. Саранск.
- доктор биологических наук, профессор  
**Зайцева Елена Владимировна**  
заведующая кафедрой зоологии и анатомии  
ФГБОУ ВПО «Брянский государственный  
университет им. академика  
И. Г. Петровского», г. Брянск.
- Ведущая организация:** ФГБОУ ВПО «Ивановская государственная  
сельскохозяйственная академия», г. Иваново

Защита диссертации состоится «14» декабря 2012 г. в 12.00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.117.15 при ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва» по адресу: 430005, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Большевикская, 68.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке им. М. М. Бахтина Мордовского государственного университета им. Н. П. Огарёва.

Объявление о защите и автореферат диссертации размещены на официальном сайте Мордовского государственного университета им. Н. П. Огарёва [www.mrsu.ru](http://www.mrsu.ru) и Интернет-сайте ВАК <http://vak2.ed.gov.ru>

Автореферат разослан «13» ноября 2012 г.

Ученый секретарь диссертационного совета



Романова Т. А.

# 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**1.1. Актуальность темы.** В условиях сокращения добычи океанической рыбы и снижения биологических ресурсов внутренних водоемов аквакультура остается одним из надежных источников увеличения объемов пищевой продукции (А. К. Богерук, 2006; А. А. Крайний, 2007; Ю. П. Мамонтов и др., 2007). Несмотря на накопленный опыт и достижения в области аквакультуры, современный уровень развития общества требует разработки и внедрения в реальный сектор экономики наукоёмких технологий, направленных на получение жизнеспособной молодежи, обладающей высокими темпами роста, устойчивой к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды (Т. П. Михелес, 2001; И. С. Мухачев, 2009; А. М. Багров и др., 2004; Б. Н. Котенев и др., 2006).

Установлено, что изменение оксигенации икры в период инкубации, механические повреждения и другие воздействия являются неотъемлемой частью технологических процессов при искусственном воспроизводстве рыб и приводят к активации неспецифических ответных реакций организма рыб уже на ранних этапах онтогенеза (В. В. Залепухин, 2001; А. С. Константинов и др., 1998). Высокая чувствительность рыб к действию различных абиотических факторов в период эмбрионально-личиночного развития определяет необходимость исследования механизмов адаптации организма эмбрионов к данным факторам с использованием современных методов биохимии и морфологии. Считается доказанным, что на ранних этапах онтогенеза регуляция неспецифических механизмов адаптации может обеспечиваться за счет накопленных в яйце самок в процессе оогенеза антиоксидантных соединений (А. Е. Микულიн, 1992). Вместе с тем изучение механизмов адаптации рыб к неблагоприятным факторам внешней среды на ранних этапах онтогенеза остается изученным крайне недостаточно (Л. А. Бондарева и др., 2006; Г. Н. Новиков, 2000).

При всех неоспоримых преимуществах аквакультуры перед естественным воспроизводством рыб получение половых продуктов от производителей и искусственное оплодотворение икры на воздухе несет опасность повышения уровня свободнорадикального перекисного окисления липидов и других органических соединений яйца с возможностью развития окислительного стресса и его негативным влиянием на ход морфогенетических процессов (А. Р. Исуев, 1990; В. Р. Микряков и др., 2001; Е. Б. Меньщикова и др., 2008; В. З. Залепухин, 2006). Каротиноиды представляют наименее изученную группу соединений, участвующих в регуляции процессов дыхания, а также защите клеток тканей эмбрионов от повреждения активными кислородными метаболитами (А. Е. Микულიн, 2000). При этом роль свободнорадикального перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты рыб в реализации летальных и сублетальных повреждений клеток эмбрионов активными кислородными метаболитами остаются изучены крайне недостаточно. Указанное определяет необходимость уточнения роли

естественных антиоксидантных соединений яйца рыб в механизмах реализации программы индивидуального развития эмбрионов и личинок карпа.

С точки зрения фундаментальной биологии, исследование механизмов адаптации рыб на ранних этапах онтогенеза к действию абиотических факторов позволит вывить наиболее чувствительные к их влиянию молекулярные мишени и определить ключевые звенья патогенеза повреждений клеток различных тканей у эмбрионов и личинок рыб.

Изучение влияния абиотических факторов среды обитания рыб на особенности их развития в ранние периоды онтогенеза является основой для разработки новых, научно обоснованных методов управления морфогенетическими процессами в организме рыб в условиях аквакультуры. Данный подход представляет интерес для прикладной биологии и позволит увеличить выход предличинок из икры, обладающих высокими темпами роста и устойчивыми к технологическим нагрузкам.

В этой связи изучение роли активных кислородных метаболитов в механизмах адаптации эмбрионов рыб к абиотическим факторам окружающей среды в динамике эмбрионально-личиночного развития, а также поиск методов управления окислительными процессами в организме рыб с использованием антиоксиданта «Тиофан» явились основанием для проведения настоящего исследования.

**1.2. Цель исследования** – изучить влияние активных кислородных метаболитов на эмбриогенез алтайского зеркального карпа и возможность управления окислительными процессами в икре антиоксидантом «Тиофан».

**Задачи исследования:**

1. Изучить активность процессов липопероксидации и функциональное состояние системы антиоксидантной защиты у эмбрионов и личинок рыб породы алтайский зеркальный карп при традиционной технологии аквакультуры и использовании антиоксиданта «Тиофан».

2. Представить сравнительную морфофункциональную характеристику эмбрионов и личинок рыб породы алтайский зеркальный карп, полученных при традиционной технологии аквакультуры и использовании антиоксиданта «Тиофан».

3. Оценить показатели роста и развития рыб породы алтайский зеркальный карп в постэмбриональном периоде развития, полученных при традиционной технологии аквакультуры и использовании антиоксиданта «Тиофан» в сравнительном аспекте.

**1.3. Научная новизна.** Впервые исследовано состояние процессов липопероксидации и активность системы антиоксидантной защиты у рыб породы алтайский зеркальный карп в период эмбрионально-личиночного развития. Впервые установлено влияние повышенной оксигенации при обесклеивании икры «сухим» способом на увеличение уровня свободнорадикального перекисного окисления липидов в икре алтайского зеркального карпа. Впервые доказано повреждение клеток эмбрионов рыб на стадиях бластулогенеза, гастрюляции и органогенеза активными кислородными

метаболитами. Впервые изучено влияние свободнорадикального перекисного окисления липидов на интенсивность расщепления трофического материала и каротиноидов в яйце рыб. Впервые выявлена связь между размерами желтка свободных эмбрионов рыб породы алтайский зеркальный карп и их темпами роста при переходе на смешанное питание.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Усиление процессов свободнорадикального перекисного окисления липидов и перенапряжение системы антиоксидантной защиты являются характерным признаком традиционных технологий аквакультуры, что приводит к повреждению активными кислородными метаболитами клеток эмбрионов в период бластулогенеза, гастрюляции и органогенеза.

2. Использование антиоксиданта нового поколения «Тиофан» снижает показатели липопероксидации в оплодотворенном яйце рыб, нецеловое расщепление трофического материала желтка у эмбрионов и через антирадикальный механизм увеличивает темпы роста эмбрионов и личинок карпа при переходе на смешанное питание.

3. Использование метода антирадикальной защиты эмбрионов алтайского зеркального карпа определяет преимущества в росте и развитии рыб на старте, которые сохраняются в течение первого года жизни.

**1.4. Научно-практическая значимость работы.** Установлена роль активных кислородных метаболитов в реализации программы индивидуального развития рыб в эмбрионально-личиночный период. Впервые разработан метод управления свободнорадикальными процессами в оплодотворенной икре рыб породы алтайский зеркальный карп в период эмбрионально-личиночного развития антиоксидантом «Тиофан». Внедрение в технологию аквакультуры нового метода обесклеивания оплодотворенной икры с применением антиоксиданта «Тиофан» обеспечивает перераспределение функций организма эмбрионов рыб при резких колебаниях кислородного режима в направлении расщепления пластических и энергетических ресурсов на рост и развитие особи. Использование нового метода антирадикальной защиты эмбрионов и личинок рыб позволяет снизить показатели эмбриональной смертности рыб на 12,06% и увеличить интенсивность темпов роста и развития эмбрионов и личинок на 4,79%, мальков рыб на 48,1% и сеголетков карпа на 60,48% по сравнению с контролем. Полученные на старте преимущества в росте и развитии при использовании нового метода аквакультуры сохраняются в течение первого года жизни рыб.

**1.5. Реализация результатов исследования.** Результаты диссертационного исследования относительно влияния активных кислородных метаболитов на эмбриогенез зеркального карпа используются в лекционных курсах «Биология клетки» и «Патология клетки», «Воспроизводство водных биологических ресурсов», читаемых в Новосибирском государственном педагогическом университете. Основные результаты диссертационного

исследования используются в практической работе ФГБУ «Верхнеобьрыбвод», ООО Агрофирмы «Маяк».

**1.6. Апробация результатов исследования.** Материалы диссертации доложены и обсуждены на XLVIII Международной научной конференции «Студент и научно-технический прогресс» (Новосибирск 2010), VI Всероссийской научно-практической конференции «Проблемы биологической науки и образования в педагогических вузах» (Новосибирск 2010), VIII Международной конференции «Биоантиоксидант» (Москва 2010), XV Международной экологической конференции «Экология России и сопредельных территорий» (Новосибирск 2010), VII Всероссийской научно-практической конференции «Проблемы биологической науки и образования в педагогических вузах» (Новосибирск 2011).

**1.7. Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе 4 – в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ.

**1.8. Структура и объём работы.** Диссертационная работа изложена на 130 страницах компьютерного текста, включает: введение, обзор литературы, описание материала и методов исследования, результаты собственных исследований и их обсуждение, выводы, практические предложения, библиографический список цитируемой литературы, включающий 275 источников, из них 201 российских и 74 зарубежных авторов и приложения. Работа иллюстрирована 28 рисунками и 7 таблицами.

**1.9. Личный вклад.** Диссертационная работа является результатом 3-х летних полевых и лабораторных исследований автора на базе специализированного рыбоводного предприятия ООО Агрофирмы «Маяк» Алтайского края, института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, лаборатории морфологии института антиоксидантов и аналитического центра ФГБОУ ВПО «Новосибирский государственный педагогический университет» и реализована в рамках тематики исследований НОЦ «Экспериментальная и прикладная биология» ФГБОУ ВПО «НГПУ». Автор самостоятельно выполнил весь объём работ по набору, обобщению экспериментального и теоретического материалов, провёл статистическую обработку полученных результатов. Соавторы опубликованных работ оказывали консультативную, техническую и методическую помощь, за что выражаю им глубокую благодарность.

## **2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Экспериментальная часть работы проведена в весенние периоды 2009-2012 годов на базе инкубационного цеха специализированного рыбоводного предприятия ООО Агрофирмы «Маяк» Алтайского края. Технология искусственного разведения рыб породы алтайский зеркальный карп, используемая на данном предприятии, включала получение половых продуктов от производителей, подобранных согласно селекционно-генетической карте,

искусственное оплодотворение икры «сухим» способом, ее обесклеивание и культивирование в аппаратах Вейса.

Эмульсию для обесклеивания икры готовили на основе 1% масляного раствора антиоксиданта «Тиофан» с добавлением проточной воды в гомогенизаторе при скорости вращения 3000 об/мин в течение 30 минут.

Согласно протоколу эксперимента всю икру, полученную от одной самки и оплодотворенную половыми продуктами, полученными от одного производителя, помещали в равных объемах в три аппарата Вейса для обесклеивания. В первом аппарате обесклеивание икры производили традиционным для данного хозяйства способом – цельным молоком – из расчета 0,5 л молока на 8 л воды. Эмбрионы и личинки в данном аппарате составили 1-ую контрольную группу. Во втором аппарате, в качестве обесклеивающего раствора вместо молока использовали 1%-й масляный раствор антиоксиданта «Тиофан» из расчета 0,5 л данного раствора на 8 л воды (опытная группа). В третьем аппарате для обесклеивания оплодотворенной икры применяли растительное масло в объеме 0,5 л на 8 л воды (2-я контрольная группа). Дальнейшую инкубацию икры проводили в аппаратах Вейса в проточной воде при температуре 21-24°C в течение 4-х суток. Все исследования были проведены в 10 повторях.

Особенности развития эмбрионов карпа всех исследуемых групп оценивали в проходящем свете на живой икре с использованием комплекса оптико-структурного анализа «Olimpus BBS-№2». Морфологический анализ предличинки, личинок и мальков осуществляли согласно схеме И. Ф. Правдина (1966). Измерения производили при помощи электронной линейки-штатгенциркуля с точностью до 0,01 мм. Исследуемые параметры включали общую и стандартную длину тела, длину туловища, высоту и толщину тела, длину головы, диаметр глаза, диаметр желточного мешка.

Исследование опытных и контрольных образцов проводили на базе лаборатории морфологии НИИ химии антиоксидантов федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Новосибирский государственный педагогический университет» (ФГБОУ ВПО «НГПУ»).

Ультраструктурный анализ икры был выполнен на базе Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН с использованием электронного микроскопа JEM-1400 фирмы «Jeol» (Япония).

Морфогистохимические исследования икры и эмбрионов проводили на гистологических срезах. Локализацию  $Ca^{2+}$  в икре карпа определяли по Крэтгену (Б. Ромейс, 1954).

Жирнокислотный состав икры определяли на базе аккредитованного испытательного аналитического центра Новосибирского института органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН методом хроматографического анализа в газовом и жидкостном хроматографах фирмы «Agilent» в соответствии с ГОСТ 30418-96, ГОСТ Р 51483-99, Р 4.1.1672-03.

Определение содержания биогенных элементов (кальций, калий и натрий) в гомогенатах икры производили на базе аналитического центра ФГБОУ ВПО «НГПУ» методом атомно-эмиссионного анализа с индуктивно связанной плазмой (МУК 4.1.1482-03).

Интенсивность процессов свободнорадикального перекисного окисления липидов (СПОЛ) в гомогенатах икры и эмбрионов оценивали по содержанию продуктов СПОЛ – малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов (ДК) (И. Д. Стальная, 1977; М. И. Душкин, 1998). Функциональное состояние системы антиоксидантной защиты (АОЗ) оценивали по показателям активности каталазы (КАТ) (М. А. Королюк и др. 1988; Н. Aebi, 1984) и содержания каротиноидов (В. И. Лапин и др., 1970; Н. А. Плохинский, 1970; В. Н. Davies, 1965, 1976; F. N. Foppen 1971).

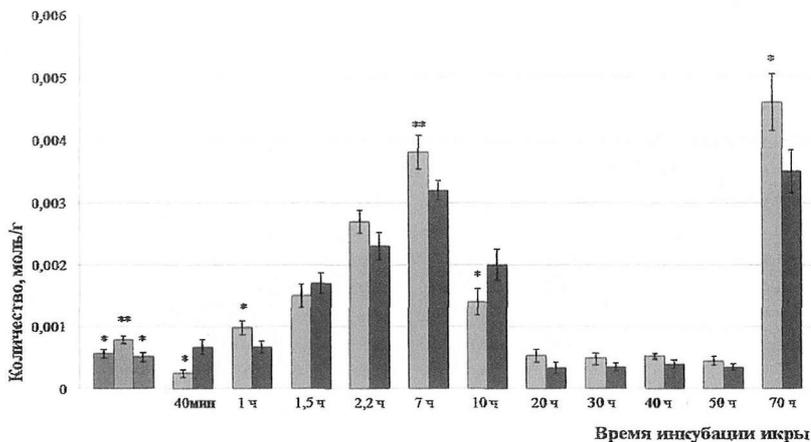
Физиологические показатели предличинок и личинок рыб породы алтайский зеркальный карп оценивали по количеству поглощенного ими кислорода за 1 час согласно методике Винклера, основанной на способности гидроксида марганца в щелочной среде взаимодействовать с растворенным в воде кислородом (А. Л. Лобачев и др. 2006; В. В. Кузьмина, 2007).

Измерение морфометрических характеристик проводили с помощью комплекса программ AxioVision (Carl Zeiss, Германия). Статистическую обработку данных проводили на основе вычисления средних арифметических ( $\bar{x}$ ) и их ошибок ( $S_x$ ). Различия показателей оценивали методом вариационной статистики по  $t$ -критерию Стьюдента и считали достоверным при  $p \leq 0,05$ . Все расчёты проводили по общепринятым формулам (Г. Ф. Лакин, 1980) с использованием пакета программ Microsoft Excel 2010.

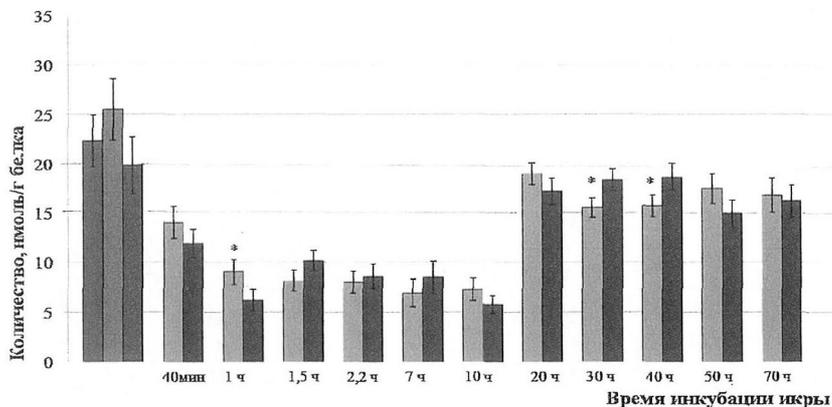
### **3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

#### **3.1. Сравнительная характеристика процессов липопероксидации и активности системы антиоксидантной защиты у эмбрионов алтайского зеркального карпа при традиционной технологии аквакультуры и использовании антиоксиданта «Тиофан»**

Для уточнения роли активных кислородных метаболитов (АКМ) в процессах эмбрионального развития карпа на ранних этапах онтогенеза было использовано два подхода. Первый заключался в получении икры от самок на воздухе в соответствии с протоколом технологии традиционной аквакультуры. Второй моделировал процесс естественного нереста рыб, и получение икры от самок производили в воде с последующей *ex tempore* её консервацией путем замораживания. Результаты биохимического анализа неоплодотворенной икры, полученной от производителей на воздухе, показали, что содержание первичных продуктов СПОЛ – ДК статистически достоверно превышает данный показатель аналогичных образцов икры, полученных от производителей в воде на 29,11% (рис. 1 А). Изменений в значениях МДА между икрой двух исследуемых групп не обнаружено (рис. 1 Б).



А



Б

Рис. 1. Изменение содержания продуктов свободнорадикального перекисного окисления липидов в икре и эмбрионах рыб породы алтайский зеркальный карп: А – ДК; Б – МДА.

Примечания:

1. На рис. 1 – достоверное различие между показателями контрольной и опытной групп (\* $p \leq 0,05$ , \*\* $p \leq 0,01$ ).

1. На рис. 1 ■ икра, полученная от самки в воде; ■ неоплодотворенная икра; ■ оплодотворенная икра; □ опытная группа; ■ контрольная группа.

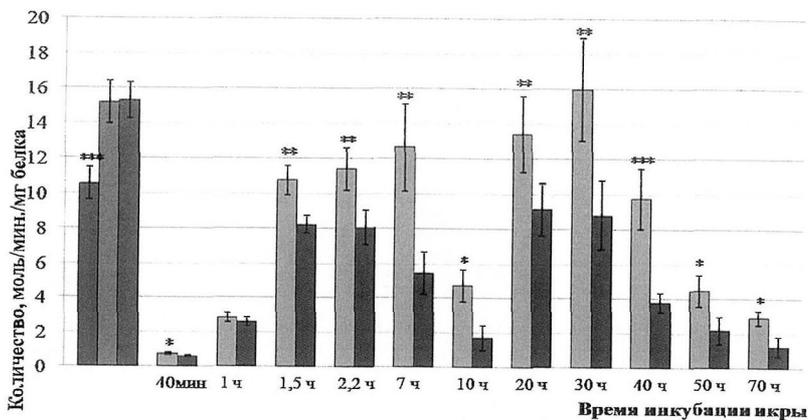


Рис. 2. Исследование активности каталазы на ранних этапах эмбрионального развития зеркального карпа.

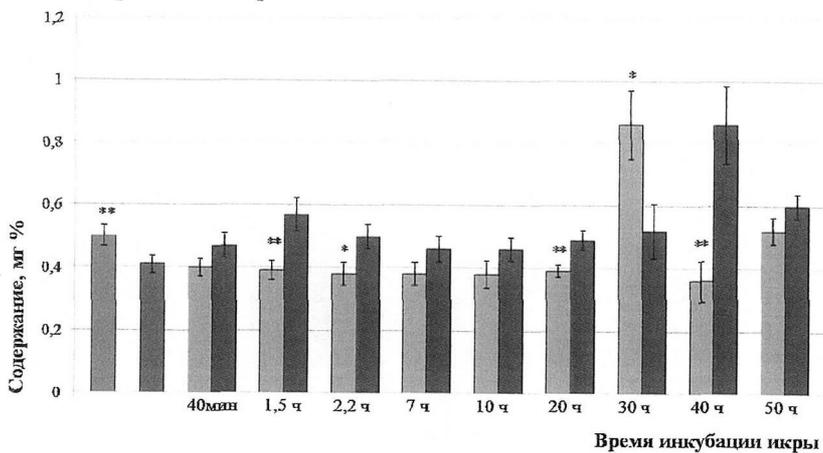


Рис. 3. Изменение содержания свободной фракции каротиноидов в икре зеркального карпа 1-й контрольной и опытной групп в динамике эмбрионально-личиночного развития.

Примечания:

1. На рис. 2, 3 – достоверное различие между показателями контрольной и опытной групп (\* $p \leq 0,05$ , \*\* $p \leq 0,01$ , \*\*\* $p \leq 0,001$ ).

2. На рис. 2, 3 ■ икра, полученная от самки в воде □ неоплодотворенная икра; ■ оплодотворенная икра; □ опытная группа; ■ контрольная группа.

При этом активность КАТ в образцах икры, полученных от самок в воде, была достоверно ниже на 30,72%, чем в образцах, полученных от производителей на воздухе (рис. 3). Исследование содержания полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) в икре карпа позволило установить, что при статистически достоверном повышении уровня СПОЛ в икре, полученной от самок на воздухе, в данных образцах регистрируется снижение содержания докозапентаеновой и докозадиеновой кислот, имеющих в составе две двойных связи и более, на 27,3% и на 42,9% по сравнению с образцами икры, полученными от самки в воде. Данные результаты позволяют считать, что в условиях традиционной технологии аквакультуры отбор половых продуктов от самок на воздухе является фактором, запускающим СПОЛ в яйце. Увеличение активности КАТ можно рассматривать как адаптивную реакцию в икре на повышение СПОЛ, направленную на защиту молекул органических соединений яйца от АКМ, что уже с первых этапов технологического процесса аквакультуры вызывает напряжение уровня метаболизма в яйце. Следовательно, при традиционной технологии аквакультуры получение икры на воздухе приводит к повышению окисления, прежде всего ПНЖК, являющихся необходимым материалом для формирования мембранных структур клеток эмбрионов. При этом увеличение активности КАТ не гарантирует адекватную антирадикальную защиту трофического материала желтка. В условиях цепной реакции СПОЛ и недостаточной активности КАТ повышенное окисление жирных кислот (ЖК) может привести к их «холостому» расходованию, а не к обеспечению морфогенетических процессов. Возможность управления процессами СПОЛ в яйце на ранних этапах онтогенеза оценивалась при использовании антиоксиданта «Тиофан» в процессе обесклеивания икры.

Сравнительное исследование содержания продуктов СПОЛ – ДК и МДА в икре карпа при введении в состав обесклеивающего раствора антиоксиданта «Тиофан» и традиционной технологий обесклеивания икры показало, что в период от 40 минут и до 7 часов эмбрионального развития в икре всех исследуемых групп происходит возрастание уровня первичных продуктов СПОЛ – ДК, а уровень вторичных продуктов – МДА достоверно не изменяется (рис. 1 А, Б). При этом на сроках 1 и 7 часов эмбрионального развития отмечается достоверное превышение уровня ДК в образцах икры опытной группы по сравнению с 1-й контрольной на 31,63% и 15,78% соответственно. Важно отметить, что в интервале 40 минут – 7 часов развития активность КАТ в опыте достоверно превышала соответствующие значения контрольных образцов на 23,09%, 28,97%, 57,07% соответственно (рис. 2). Выявленная динамика повышения уровня СПОЛ является следствием окисления субстратов яйца и может объясняться необходимостью интенсивного расходования трофического материала желтка, в том числе липидов, на обеспечение как морфогенетических процессов, так и их «холостого» расходования при недостаточной активности антиоксидантной системы (АОС) эмбрионов.

Сравнительный анализ содержания продуктов СПОЛ в опытных и контрольных образцах икры показал, что на сроках 40 минут и 10 часов эмбрионального развития в группе с использованием для обесклеивания икры антиоксиданта «Тиофан» содержание ДК снижается на 62,6% и на 30% соответственно в аналогичные промежутки времени по сравнению с контролем (рис. 1 А). При этом значения МДА в опыте и контролях не имеют различий (рис. 1 Б). Активность КАТ на данном сроке отбора проб в гомогенатах икры 1-й контрольной группы статистически достоверно ниже на 18,42% и 64,12% по сравнению с опытными образцами в соответствующие временные интервалы (рис. 2). Повышение уровня СПОЛ и снижение активности КАТ в гомогенатах икры 1-й контрольной группы на сроке 40 минут и 10 часов эмбриогенеза карпа указывают на развитие окислительного стресса (ОС).

Исследование содержания ПНЖК в икре на сроке 40 минут развития позволило установить, что в опытных образцах происходит статистически достоверное снижение содержания линолевой ( $\omega$ -6), арахидоновой ( $\omega$ -6), эйкозапентаеновой ( $\omega$ -3), докозатетраеновой ( $\omega$ -6), докозагексаеновой ( $\omega$ -6), ЖК по сравнению с контрольными образцами на 54,76%; 50,9%; 41,6%; 66,36%; 51,2% соответственно. Данная точка отбора проб совпадает с первым критическим периодом эмбрионального развития рыб. Возможность витального наблюдения доступных структур у эмбрионов в проходящем свете, а именно количества или морфологии бластомеров, на данном сроке позволяет определить использование продуктов СПОЛ в реализации морфогенетических процессов или их деградацию вследствие свободнорадикального окисления и депрессии системы АОЗ.

Превышение уровня СПОЛ в интервале от 40 минут до 70 часов эмбрионального развития карпа при обеспечении достоверно высокого уровня активности КАТ в образцах икры опытной группы по сравнению с 1-й контрольной группой предполагает более интенсивное течение метаболических процессов а, следовательно, и темпов морфогенеза в опытной группе. Пики приходится на 1-й и 7-й часы эмбрионального развития. Однако доказательство или опровержение выдвинутого предположения требует проведения морфологического анализа. Отсутствие в указанный интервал времени различий между опытными и контрольными образцами в содержании одного из важных показателей СПОЛ – вторичного продукта – МДА, можно объяснить ограничением свободнорадикальных процессов за счет реализации механизмов АОЗ, сформированных в яйце в процессе оогенеза. Типичными представителями естественных АОС являются каротиноиды, которые содержатся в икре всех видов рыб.

Результаты сравнительного биохимического анализа количественного содержания каротиноидов в икре всех исследуемых групп показали, что в соответствующих образцах 1-й контрольной группы по сравнению с опытной в течение первых 20 часов эмбрионального развития происходит динамичное повышение количества свободной от связи с белком фракции каротиноидов (рис. 3). Можно считать, что увеличение в исследуемых образцах икры 1-й

контрольной группы по сравнению с опытной уровня свободной от белков фракции каротиноидов на стадиях дробления, гастрюляции и органогенеза связаны с необходимостью их адаптивного участия в инактивации АКМ. Важно отметить, что на сроке 30 часов инкубации повышение уровня вторичного продукта СПОЛ – МДА в образцах икры 1-й контрольной группы по сравнению с опытной на 15,6% (рис. 1 Б) совпадает со снижением активности КАТ на 44,87% (рис. 2) и содержания каротиноидов в контроле по сравнению с опытом на 39,53% соответственно (рис. 3). Можно полагать, что срок 30 часов эмбрионального развития является одним из важных временных промежутков эмбриогенеза, характеризующихся высоким уровнем окислительных процессов, в течение которого требуется повышение активности АОС.

Схожая закономерность в отношении повышения уровня СПОЛ и снижения активности КАТ отмечается на сроке 40 часов инкубации икры. Содержание МДА в контрольных образцах икры превышает данный показатель в икре опытной группы на 15,82% (рис. 1 Б), а активность КАТ в 1-й контрольной группе статистически достоверно ниже, чем в опытных образцах на 61,3% (рис. 2). При этом превышение содержания свободных от связей с белком каротиноидов, которые обладают в том числе и АО активностью, в икре 1-й контрольной группы на 58,14% (рис. 3) по сравнению с опытной группой не обеспечивает снижения содержания вторичных продуктов – МДА в исследуемых образцах икры 1-й контрольной группы. Это позволяет сделать заключение о том, что введение антиоксиданта «Тиофан» в составе обесклеивающей эмульсии обеспечивает выполнение им своих специфических антиоксидантных функций и обеспечивает экономный режим расходования собственных антиоксидантных соединений – каротиноидов.

### **3.2. Сравнительная морфофункциональная характеристика эмбрионов и предличин алтайского зеркального карпа при традиционной технологии аквакультуры и использовании антиоксиданта «Тиофан»**

При исследовании икры зеркального карпа в проходящем свете установлено, что в соответствующих образцах 1-й контрольной группы через 40 минут после оплодотворения отмечается перемещение ооплазматического материала в направлении к анимальному полюсу желтка и начинается формирование плазматического бугорка. В опытной группе, где в составе обесклеивающего раствора вводили антиоксидант «Тиофан», на анимальном полюсе желтка идентифицируется четко оформленный плазматический бугорок и первая борозда дробления.

Согласно данным морфометрического анализа диаметр икры и ширина перивителлинового пространства в образцах яиц контрольных и опытной групп через 40 минут после оплодотворения имели статистически достоверные различия (табл. 1). В группе с использованием традиционной технологии аквакультуры исследуемые показатели превышали соответствующие значения опытной группы на 6,53% и 32,6% соответственно.

Таблица 1

Морфометрическая характеристика икры зеркального карпа  
через 40 минут после оплодотворения

Группа	Диаметр икры, мкм	Диаметр желтка, мкм	Высота бластодиска, мкм	Ширина перивителлинового пространства, мкм
1-я контрольная	1850,97±19,6***	1307,99±37,6	183,92±15,7	220,94±19,9*
опытная	1730,14±11,9	1327,88±36,8	163,36±36,2	148,28±26,08

Различия между показателями контрольной и опытной групп достоверны (\* $p \leq 0,05$ ; \*\*\* $p \leq 0,001$ ).

На электронограммах образцов икры 1-й контрольной группы отчетливо заметно, что оболочка яйца состоит из трех слоев – наружного, среднего и внутреннего. Наружный слой оболочки толщиной  $0,67 \pm 0,14$  мкм на поверхности покрыт слоем фибриллярных структур, среди которых идентифицируются интенсивно осмиофильные частицы округлой формы размером  $93 \pm 2,8$  нм. Средний слой толщиной  $0,16 \pm 0,03$  мкм имеет более высокую электронную плотность по сравнению с наружным и внутренним слоями, образован близко расположенными гранулярными структурами размерами менее 20 нм. На ультратонких срезах заметно, что внутренний слой имеет толщину  $4,51 \pm 0,7$  мкм и представлен радиально расположенными по отношению к поверхности яйца пластинчатыми структурами. Их количество в среднем составляет 12-14, и размеры в продольном сечении соответствуют  $0,46 \pm 0,06$  мкм. Оболочка икры в плоскости, перпендикулярной поверхности яйца, пронизана каналами, полость которых имеет диаметр  $0,8 \pm 0,12$  мкм. Наружный слой оболочки яйца в области расположения канала образует выступы, между которыми располагается структура округлой формы, изолирующая полость канала от окружающей среды. Морфология канала в области внутреннего слоя оболочки позволяет считать, что его полость сообщается с перивителлиновым пространством.

На светооптическом уровне ширина перивителлинового пространства определяется как расстояние между поверхностью желтка и оболочкой яйца. Вместе с тем данные электронной микроскопии показали, что результаты морфометрических исследований, полученные при анализе образцов икры контрольной группы в проходящем свете, не соответствуют результатам ультраструктурного анализа. Заполненное водой пространство, которое располагается между желтком и оболочкой икры, представляет собой на уровне ультраструктуры участок цитоплазмы анимального полюса яйца, с признаками ярко выраженного нарушения водно-ионного гомеостаза. При этом видима в проходящем свете полость перивителлинового пространства представляет собой обводненный участок клетки со смещенной плазматической мембраной яйца прямо к внутренней оболочке икры. В связи с чем ширина перивителлинового пространства оказывается достоверно меньше, чем значение, полученное при изучении препаратов в проходящем свете. Это

позволяет считать, что в контрольных образцах глубокие изменения водно-электролитного баланса в яйце приводят к набуханию цитоплазмы, а не увеличению перивителлинового пространства.

Для образцов икры опытной группы типичным признаком является наличие хорошо выраженного перивителлинового пространства, отделяющего цитоплазму от оболочек яйца. Среди фибриллярных компонентов, прилежащих к наружному слою оболочки, идентифицируется обилие мелких интенсивно осмиофильных частиц округлой формы размером 10-30 нм. На электроннограммах содержимое перивителлинового пространства и каналов оболочки заполнено гранулярным (20 нм) и фибриллярным материалом. В отличие от контрольных образцов каналы снаружи прикрыты не глобулярными структурами, а структурами полигональной формы. В цитоплазме яиц опытной группы обнаруживается обилие свободных рибосом и полисом, а также наличие многочисленных мембранных структур и отсутствие признаков нарушения водно-ионного гомеостаза. Эндоплазматическая сеть (ЭПС) представлена узкими каналами и расширенными цистернами, содержащими вещество умеренной электронной плотности. Характерным признаком образцов опытной группы является отсутствие признаков нарушения водно-ионного гомеостаза.

Наличие признаков нарушения водно-ионного гомеостаза в цитоплазме яиц 1-й контрольной группы послужило основанием для изучения в образцах икры исследуемых групп особенностей распределения наиболее важных катионов, участвующих в поддержании ионного гомеостаза клетки (табл. 2).

Таблица 2

Содержание биогенных катионов в икре карпа  
через 40 минут после оплодотворения

Группа	Массовая доля, мг/кг		
	Кальций	Натрий	Калий
Опыт	57,2±6,32*	408±10,25**	735±22,12*
Контроль	105,8±21,43	505±18,16	924±23,33

Различия между показателями контрольной и опытной групп достоверны (\* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,01$ ).

При анализе содержания основных катионов, участвующих в регуляции водно-ионного гомеостаза, было установлено, что между опытными и контрольными образцами существует различие в содержании натрия и калия на 19,21% и 20,45% соответственно (табл. 2). При отсутствии в литературных источниках сведений о содержании натрия и калия в икре при идеальных условиях полученные результаты в совокупности с данными ультраструктурного анализа позволяют считать, что в икре опытной группы по сравнению с контролем происходит нарушение работы Na/K АТФ-азы. Считается, что именно с её работой связано поддержание водно-ионного гомеостаза (В. Т. Чуа, 2000; Л. А. Бондарева, 2002, 2006).

Исследования содержания кальция в образцах икры контрольной и опытной группы также обнаружили достоверные различия. В образцах икры опытной группы содержание кальция превышало аналогичное значение контрольных образцов на 45,93% (табл. 2). Как известно, повышение концентрации данного катиона в цитоплазме является сигналом для запуска  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых протеолитических систем, обеспечивающих деградацию цитоплазматических белков, в том числе участвующих в реализации программы эмбрионального развития (K Suzuki et. al., 1988; Л. А. Бондарева, 2006). Однозначно ответить на вопрос, чем объясняется повышенное содержание кальция в икре опытной группы, представляется достаточно сложным. С нашей точки зрения, источником повышенного содержания кальция в яйце может являться его усиленный транспорт через поврежденную плазматическую мембрану из внешней среды. На данный механизм косвенно может указывать его избыточная локализация в примембранном слое цитоплазмы и каналах оболочки икры опытной группы, выявленная нами в результате исследований с использованием гистохимической реакции на кальций по Крэттену. Избыточная локализация кальция в указанных компартментах яйца также может быть связана с повреждением мембран гладкой ЭПС и митохондрий, которые являются основными депо данного катиона.

В соответствии с классическими представлениями патоморфологии выявленные морфологические признаки повреждения икры карпа 1-й контрольной группы могут быть связаны с реализацией свободнорадикального (СР) механизма повреждения. Наличие в составе молекулы Na/K АТФ-азы сульфгидрильных групп, а также ПНЖК в составе билипидного слоя плазматической мембраны определяет их в качестве главных молекулярных мишеней для АКМ (А. Р. Исуев, 1990; J. A. Killian et. al., 2001). Можно полагать, что именно повреждение Na/K АТФ-азы является следствием регистрируемого на уровне ультраструктуры нарушения водно-ионного гомеостаза в яйце. Как известно, работа Na/K АТФ-азы, а также синтез КАТ являются энергозависимыми процессами. В соответствии с единством структуры и функции, имеющиеся признаки повреждения митохондрий, в частности расширение межмембранного пространства и снижение электронной плотности матрикса митохондрий в контрольных образцах, указывают на повреждение митохондрий и как следствие снижение синтеза АТФ (В. П. Скулачев, 2001; Н. С. Lee et. al., 2007). С нашей точки зрения, снижение содержания КАТ в контроле по сравнению с опытом объясняется нарушением структуры и функции системы энергообеспечения клетки.

Безусловно, что на повышение уровня СПОЛ клетка должна реагировать адекватным синтезом АО соединений. В научной литературе отмечено, что система АОЗ в период бластулогенеза является несовершенной и может обеспечиваться за счет синтеза белков по мРНК, запасенных в яйце в процессе оогенеза (З. С. Кауфман, 1990; С. Гилберт, 1993). При анализе ультраструктуры яиц 1-й контрольной группы установлено, что на анимальном полюсе

цитоплазматический матрикс характеризуется более низкой электронной плотностью по сравнению с аналогичной структурой вегетативного полюса. Преобладание в цитоплазме икры 1-й контрольной группы свободных рибосом по сравнению с опытной группой связано с синтезом немембранных белков, поступающих в пероксисомы, ключевым ферментом которых является пероксидаза и КАТ (А. Е. Дрошнев и др., 2007; Е. Б. Меньшикова и др., 2006). В связи с тем, что процесс адаптации является многокомпонентным, в условиях перенапряжения или депрессии одного из звеньев данного процесса обеспечение приспособительных реакций должно развиваться по альтернативному механизму. Увеличение свободной от связи с белками фракции каротиноидов в исследуемых образцах икры 1-й контрольной группы, с нашей точки зрения, является альтернативным механизмом АОЗ в условиях снижения активности КАТ. В соответствии с результатами работы содержание каротиноидов в контроле превышало значения опытных образцов.

Икра зеркального карпа в образцах икры 1-й контрольной группы через 1,5 часа после оплодотворения находилась на стадии четырех бластомеров, а в образцах опытной группы – на стадии восьми бластомеров. При этом во всех исследуемых образцах бластомеры были одинакового размера, формы и не имели видимых морфологических признаков нарушения строения.

Через 2 часа 20 минут после оплодотворения интенсивность бластулогенеза в 1-й контрольной и опытной группах имела ярко выраженные различия. В икре 1-й контрольной группы в структуре бластодиска четко идентифицируются крупные бластомеры, их характерным признаком являлось появление бластомеров разного размера. Содержание икры с неоднородными бластомерами составляло 15,7% от общего количества икры (табл. 3).

Таблица 3

Рыбоводные качества икры зеркального карпа

Показатель	Группа		
	1-я контрольная	2-я контрольная	опытная
Икра с неоднородными бластомерами, %	15,7±1,65	16,08±1,24	3±0,73***
Выживаемость эмбрионов через 7 часов после оплодотворения, %	84,5±3,05	83,7±2,08	97±4,73*
Выживаемость эмбрионов через 30 часов после оплодотворения, %	74±2,05	75,6±1,98	85,5±3,73**
Общий выход предличинки из икры, %	61,95±4,85	62,35±3,92	74,1±2,73*

Различия между показателями опытной и контрольных групп достоверны (\*  $p \leq 0,005$ ; \*\*  $p \leq 0,01$ ; \*\*\*  $p \leq 0,001$ )

В связи с тем, что антиоксидант «Тиофан» является жирорастворимым, для осуществления адресной доставки данного антиоксиданта в икру использовался

масляный раствор. Это явилось основанием для создания 2-ой контрольной группы, где в качестве обесклеивающего раствора вводили масляную эмульсию без содержания антиоксиданта «Тиофан». Результаты сравнительного морфологического анализа показали, что существенных различий между икрой, обработанной молоком и маслом (1-я контрольная и 2-я контрольная группы), не обнаружено (табл. 3). Можно предположить, что высокая интенсивность эмбрионального развития рыб, икра которых обработана масляным раствором антиоксиданта «Тиофан», обусловлена влиянием данного антиоксиданта на интенсивность процессов бластулогенеза. Таким образом, дальнейшее рассмотрение икры, обесклеенной раствором масляной эмульсии, явилось нецелесообразным.

Согласно результатам исследования в икре 1-й контрольной и опытной групп через 10 часов после оплодотворения регистрируются четкие различия в темпах роста и развития. В группе с применением традиционной технологии обесклеивания на нативных препаратах в указанный срок развития заметна стадия мелкоклеточной морулы и начало обрастания желтка клетками бластодермы. В опытной группе в аналогичный промежуток времени завершался этап эпиболлии, в результате которого образовалась желточная пробка, и началось утолщение головного и хвостового отделов эмбриона.

Через 20 часов образцы икры контрольных и опытной групп находились на этапе органогенеза. В образцах икры всех исследуемых групп четко идентифицируется закладка тела эмбриона. Отличием является то, что в группе с применением антиоксиданта «Тиофан» регистрируется появление головного и хвостового отделов эмбриона, заметны признаки начала формирования мозговых пузырей, глазных бокалов и первичной сегментации мускулатуры.

В икре всех исследуемых групп на сроке 30 часов развития происходило завершение этапа органогенеза, характеризующееся обособлением хвостового отдела эмбриона и ростом в длину зачатка кишечной трубки. Характерной особенностью эмбрионов опытной группы явилось появление хрусталиков в глазных бокалах, закладка зачатков слуховых плакод и обособление хвостового отдела эмбриона от желточного мешка. В контрольных образцах регистрируется лишь начало обособления хвостового отдела от желточного мешка. Данные морфометрического анализа показали, что площадь желтка в икре 1-й контрольной группы на этапе органогенеза на 9,37% была достоверно меньше, чем в опытной группе. Данная закономерность на уровне ультраструктуры впервые регистрировалась на сроке 40 минут развития и, как показывают морфологические исследования, сохраняется на всех исследуемых этапах эмбриогенеза зеркального карпа. Полученные результаты позволяют считать, что деградация желтка в опыте имеет менее выраженные признаки по сравнению с контролем.

Сравнительное изучение двигательной активности эмбрионов зеркального карпа на сроке 30 часов показало, что количество движений эмбрионов в икре опытной группы составляло  $15 \pm 1,49$  раз в минуту, а в икре 1-й контрольной –  $10 \pm 1,24$ , и эти значения имели достоверные различия. Следует отметить, что в

данный временной интервал сохранялась выявленная на более ранних сроках развития закономерность в отношении выживаемости эмбрионов карпа. Данный показатель на 11,57% превышал соответствующий показатель эмбрионов контрольной группы (табл.3).

При исследовании эмбрионов в проходящем свете через 50 часов после оплодотворения различия между 1-й контрольной и опытной группами нивелируются или используемыми в работе методами не определяются. Вместе с тем исследование морфометрических и физиологических характеристик карпа после выклева позволяет считать, что обнаруженное на ранних стадиях эмбриогенеза опережение темпов роста и развития сохраняется у предличинок. Это утверждение доказывается при анализе сроков выклева. В опытной группе выход единичных предличинок из икры наступал на 3 часа раньше, чем в контрольной. Массовый выклев на 5 часов опережал группу контроля. При этом общий выход предличинки из икры в группе с использованием новой технологии обесклеивания на 12,15% превышал соответствующий показатель в контрольной группе (табл.3).

При исследовании интенсивности дыхания у эмбрионов рыб алтайского зеркального карпа опытной группы потребление кислорода на 26,09% ниже, чем в 1-й контрольной группе (табл. 4).

Таблица 4

Коэффициент потребления кислорода у рыб породы алтайский зеркальный карп в эмбриональный период развития (Мг O<sub>2</sub>/л)

Возраст Группа	Эмбрионы на стадии органогенеза	Предличинки (1-3 сутки после выклева)	Личинки (4-6 сутки после выклева)
Опытная	1,7±0,11*	1,7±0,16*	1,1±0,18*
Контрольная	2,3±0,13	2,3±0,1	2,3±0,26

\* Достоверны различия опытной группы относительно контрольной  $p \leq 0,05$

### 3.3. Влияние антиоксиданта «Тиофан» на особенности постэмбрионального развития рыб породы алтайский зеркальный карп

Данные морфометрического анализа показали, что в 1-е, 2-е и 3-и сутки после выклева между предличинками 1-й контрольной и опытной групп выявлены различия в размерах провизорного органа (желточного мешка) и общей длины тела. Диаметр желточного мешка является одним из важных показателей благополучия особи при переходе на автономное существование. Считается, что изменение его морфометрических параметров связано с расходом пластического материала на увеличение линейных размеров. При анализе данного показателя у свободных эмбрионов карпа 1-й контрольной и опытной групп в 1-е сутки после выклева обнаруживается противоречие с известными представлениями. Так, у 1-суточных свободных эмбрионов 1-й контрольной группы при меньшей площади желточного мешка на 11,34%по сравнению с эмбрионами опытной группы длина тела не имела различий (табл. 5). С нашей точки зрения, данное противоречие можно объяснить

повышенным расходом пластических материалов желтка не на рост и развитие, а на окисление трофических компонентов желтка в результате усиления СПОЛ. Наличие в составе желтка икры ПНЖК в условиях повышения окислительных процессов и депрессии антиоксидантной системы приводит к их свободнорадикальному окислению, что, по сути, исключает ПНЖК из общего метаболизма и приводит к «холостому» расходованию. Лишь на 2-е и 3-и сутки постэмбрионального развития у предличинок опытной группы происходит снижение диаметра желточного мешка на 7,45% и 14,64% соответственно и увеличение линейных размеров на 5,44% и 4,78% по сравнению с 1-й контрольной группой, что не противоречит существующим положениям биологии развития (табл. 5).

Таблица 5

Морфометрические показатели предличинки карпа  
1-й контрольной и опытной групп в первые дни после выклева (мм)

Показатель	1-е сутки после выклева		2-е сутки после выклева		3-и сутки после выклева	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
длина тела	5,845±0,11	5,966±0,1	6,586±0,09*	6,965±0,12	9,498±0,13*	9,975±0,17
длина головы	1,527±0,05	1,576±0,04	1,565±0,09	1,560±0,05	2,107±0,09	2,143±0,14
высота головы	1,018±0,02*	1,123±0,04	1,083±0,03*	1,247±0,07	1,413±0,08	1,606±0,06
диаметр глаза	0,395±0,02*	0,487±0,03	0,483±0,02	0,494±0,03	0,624±0,05	0,637±0,15
диаметр желточного мешка	1,134±0,06*	1,279±0,04	1,127±0,02*	1,043±0,03	1,045±0,03*	0,892±0,06

\* Достоверные различия опытной группы относительно контрольной  $p \leq 0,05$ .

Преобладание не только роста, но и развития у предличинок и личинок опытной группы по сравнению с 1-й контрольной прослеживается при анализе интенсивности дыхания (табл. 4). Согласно данным таблицы 4 коэффициент потребления кислорода в 1-й контрольной группе на 29,06% и на 52,17% соответственно превышает аналогичные показатели опытной группы.

В соответствии с классическими представлениями эмбриологии рыб увеличение дыхания связывается с повышением общего метаболизма за счет расходования трофического материала желтка и направлено на обеспечение темпов роста и развития (А. П. Макеева, 1992; Л. В. Белоусов, 2005). Можно считать, что в условиях повышенного уровня СПОЛ уменьшение ресурсов желточного мешка в образцах рыб 1-й контрольной группы в 1-е сутки после выклева сопряжено с интенсивным расходом кислорода в процессе СПОЛ. У рыб опытной группы рациональное расходование органических веществ желтка в течение 1-3 суток постэмбрионального развития сочеталось с более высокими темпами роста и стабильно низким уровнем потребления кислорода по сравнению с контролем. Полученные результаты позволяют считать, что применение нового метода обесклеивания икры с использованием

антиоксиданта «Тиофан» ограничивает развитие цепных свободнорадикальных процессов в яйце и способствует рациональному использованию трофического материала желтка на рост и развитие эмбрионов.

Однократное применение метода свободнорадикальной защиты эмбрионов карпа в период обесклеивания икры и полученные преимущества в росте и развитии рыб опытной группы сохраняются в течение малькового и ювенильного периодов их развития. По данным морфометрического анализа, проведенного в возрасте 3-х недель, особи опытной группы по экстерьерным показателям превосходили мальков 1-й контрольной группы по массе тела на 66,7%, общей длине и длине тела на 29,06 % и на 26,8% соответственно, а также по обхвату тела на 31,52% (табл. 6)

Таблица 6

Морфометрические показатели мальков карпа контрольной и опытной групп в возрасте трех недель

Показатель	Опыт	Контроль
Масса тела, г	0,162±0,049*	0,054±0,014
Общая длина тела, мм	22,2±2,2**	15,75±1,03
Длина тела, мм	17,7±1,77*	12,95±0,72
Высота тела, мм	5,9±1,1	3,75±0,49
Толщина тела, мм	3,35±0,4	2,45±0,5
Обхват тела, мм	16,5±1,6*	11,3±1,34

Различия между показателями контрольной и опытной групп достоверны (\* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,01$ ).

Несмотря на незначительные превышения морфометрических показателей у эмбрионов, личинок и мальков опытной группы по сравнению с контрольной группой, разработанный новый метод обесклеивания оплодотворенной икры с применением антиоксиданта «Тиофан» дает основание считать, что блокирование СПОЛ на ранних этапах онтогенеза защищает клетки тканей и органов карпа от АКМ, что определяет преимущества в росте и развитии рыб на старте. При исследовании массы тела сеголетков карпа и линейных размеров рыбы опытной группы в течение первых 5 месяцев жизни по данным показателям превышали аналогичные показатели рыб 1-й контрольной группы на 82,7% и 38,2% соответственно.

## ВЫВОДЫ

1. Получение половых продуктов от производителей и оплодотворение икры на воздухе при традиционной технологии аквакультуры вызывает повышение липопероксидации в яйце карпа, напряжение системы антиоксидантной защиты и развитие окислительного стресса на сроках 40 минут и 10 часов эмбриогенеза.

2. Новый метод обесклеивания икры с использованием антиоксиданта «Тиофан» обеспечивает снижение уровня липопероксидации в икре и снижение эмбриональной смертности по сравнению с традиционной технологией аквакультуры.

3. Использование антиоксиданта «Тиофан» в процессе обесклеивания икры по сравнению с традиционной технологией аквакультуры обеспечивает преимущество в темпах роста и развития эмбрионов на этапах бластулогенеза, гастрюляции, органогенеза и личинок при переходе на внешнее питание.

4. Мальки и сеголетки алтайского зеркального карпа, полученные при использовании антиоксиданта «Тиофан», по массе тела и линейным размерам достоверно превосходят рыб, выращенных при традиционной технологии аквакультуры в аналогичные периоды постэмбрионального развития.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для снижения эмбриональной смертности и увеличения темпов роста молоди рыб породы алтайский зеркальный карп предлагается использование методов антирадикальной защиты при разведении карпа в условиях аквакультуры.

2. Синергическое сочетание антирадикальной активности фенольных фрагментов с протипероксидным действием сульфидной группы антиоксиданта «Тиофан» позволяет рекомендовать его в качестве эффективного средства противорадикальной защиты рыб при их разведении в аквакультуре.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### В журналах, рекомендованных ВАК РФ:

1. Кеберлайн О. В. Влияние различных технологий обесклеивания икры на интенсивность зародышевого развития зеркального карпа в условиях промышленной технологии / О. В. Кеберлайн, М. А. Обогрелова, А. В. Сахаров, А. А. Макеев, И. В. Морузи, Е. В. Пищенко, А. Е. Просенко, С. Н. Луканина // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – Новосибирск, 2010 – № 3 – С. 63-70.

2. Кеберлайн О. В. Инновационная технология управления процессами свободнорадикальной защиты рыб на ранних этапах онтогенеза / О. В. Кеберлайн, А. В. Сахаров, А. А. Макеев, А. Е. Просенко, Ю. В. Сафьянов // Вестник КрасГАУ. – Красноярск, 2012. – Вып. 9. – С. 112-117.

3. Кеберлайн О. В. Роль каротиноидов в механизмах адаптации эмбрионов зеркального карпа к технологическим нагрузкам при разведении в аквакультуре / О. В. Кеберлайн, А. В. Сахаров, А. А. Макеев, А. Е. Просенко // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 6; URL: [www.science-education.ru/106-7328](http://www.science-education.ru/106-7328) (дата обращения: 07.11.2012).

4. Макеев А. А. Влияние антиоксиданта тиофана на процессы пероксидации в кишечнике рыб при экспериментальной гипоксии / А. А. Макеев, А. В. Сахаров, М. А. Обогрелова, О. В. Кеберлайн, А. Е. Просенко // Вестник новосибирского государственного аграрного университета. – Новосибирск, 2010. – № 3 (15). – С.85-88.

**В других изданиях:**

5. Кеберлайн О. В. Влияние различных технологий обесклеивания икры на развитие эмбрионов и личинки карпа / О. В. Кеберлайн // «Сборник научных работ студентов и молодых ученых». – Новосибирск: НГПУ, 2009.

6. Кеберлайн О. В. Влияние различных технологий обесклеивания икры на рост и развитие карпа в раннем онтогенезе / О. В. Кеберлайн // Материалы XLVIII международной научной студенческой конференции «Студент и научно-технический прогресс». – Новосибирск, 2010. – С. 94.

7. Кеберлайн О. В. Влияние антиоксиданта тиофана на эмбриональное развитие зеркального карпа / О. В. Кеберлайн, А.А. Макеев, А.В. Сахаров, А.Е. Просенко // VI Всероссийская научно-практическая конференция «Проблемы биологической науки и образования в педагогических вузах». – Новосибирск, 2010. – С. 90-93.

8. Кеберлайн О. В. Влияние антиоксиданта тиофана на рост и развитие карпа в раннем онтогенезе / О. В. Кеберлайн // VIII Международная конференция «Биоантиоксидант». – Москва, 2010. – С. 198-200.

9. Кеберлайн О. В. Влияние антиоксиданта тиофана на показатели окислительного стресса в тканях эмбрионов и личинок зеркального карпа / О. В. Кеберлайн // XV Международная экологическая студенческая конференция «Экология России и сопредельных территорий. Новосибирск. – 2010. – С. 198.

10. Кеберлайн О. В. Влияние технологических факторов при искусственном разведении рыб на особенности транспорта катионов в раннем периоде онтогенеза / О. В. Кеберлайн, А. А. Макеев, А. В. Сахаров, А. Е. Просенко, Н. А. Аношина, Л. Н. Букреева // VII Всероссийская научно-практическая конференция «Проблемы биологической науки и образования в педагогических вузах». – Новосибирск, 2011. – С. 102-105.

---

Подписано в печать 13.11.12. Формат бумаги 60×84/16.  
Печать RISO. Уч.-изд.л. 1,5. Усл. п.л. 1,4. Тираж 110 экз.  
Заказ № 72.

---

Педуниверситет, 630126, Новосибирск, Виллюйская, 28