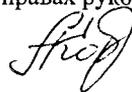


На правах рукописи



**КОБЫЛИНСКАЯ
АННА ДМИТРИЕВНА**

**ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ
ПРИМЕНЕНИЯ АНТИОКСИДАНТА «ГИОФАН» В СОСТАВЕ
ИСКУССТВЕННОГО СТАРТОВОГО КОРМА ДЛЯ КАРПА**

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

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

2 6 СЕН 2013



Саранск – 2013

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
Донкова Наталья Владимировна
заведующая кафедрой анатомии,
патологической анатомии и хирургии
ФГБОУ ВПО «Красноярский
государственный аграрный университет», г.
Красноярск.

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:

Новосибирский филиал ФГУП
«Госрыбцентр» – Западно-Сибирский
научно-исследовательский институт водных
биоресурсов и аквакультуры
г. Новосибирск

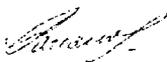
Защита диссертации состоится «12» октября 2013 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.117.15 при ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва» по адресу: г. Саранск, ул. Большевикская, 68.

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 и интернет-сайте ВАК <http://vak2.ed.gov.ru>

Автореферат разослан « 12 » сентября 2013 г.

Ученый секретарь диссертационного совета



Романова Т. А.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1. Актуальность темы. С учётом сложившихся в последние десятилетия природных и социально-экономических условий в России, искусственное воспроизводство рыб в аквакультуре является надёжным источником получения доступной полноценной рыбной продукции для реализации её на внутреннем и мировом рынке (Мамонтов Ю. П., 2000; Богерук А. К., 2006; Крайний, А. А., 2009; Грейнджер Р., 2010). Важнейшим направлением использования водного фонда внутренних водоёмов в Российской Федерации является активное развитие пресноводной аквакультуры (Багров А. М., 2004; Гордеев А. В., 2005; Иванов Д. И. 2005; Мамонтов Ю. П., Литвиненко А. И., 2007).

Сибирский федеральный округ располагает наибольшим фондом рыбохозяйственных водоёмов (7516,6 тыс. га), составляющих около 28% озёр и 14% рек от общего водного фонда Российской Федерации (Литвиненко А. И., 2007). В этой связи Западная Сибирь является одним из перспективных регионов для эффективного ведения прудового рыбоводства. Вместе с тем, в условиях Западной Сибири, эта деятельность сопряжена с двумя важными обстоятельствами. Первое обусловлено природно-климатическими особенностями Сибирского региона и принадлежностью водоёмов Сибирского федерального округа к первой рыбоводной зоне. Это означает, что совокупность градусодней не даёт возможности выращивания объектов аквакультуры от икры до товарной рыбы за один весенне-осенний период. Большинство рыбоводных предприятий вынуждено работать по двух-трёхлетнему циклу, что значительно удорожает производство рыбопродукции (Крылов Г. С., 2004). Несмотря на огромное количество водоёмов в Западной Сибири, большинство из них являются депрессивными, что определяет вторую особенность ведения рыбохозяйственной деятельности в условиях данного региона. В рамках реализации стратегии развития аквакультуры в Российской Федерации на период до 2020 года важная роль в развитии прудового и озёрного рыбоводства отводится малым аквакультурным предприятиям. Как правило, производственная деятельность малых предприятий связана с использованием для обеспечения технологических процессов воды из естественных водоёмов, характеризующихся нестабильным гидрохимическим режимом, обусловленным не только изменением качества воды вследствие её поступления в весенний период из различных источников (Мухачёв И. С., 2005; Михеев В. П., 2008). Активное поглощение фитопланктоном кислорода в естественных водоёмах в ночное время суток приводит к резкому падению его содержания в воде, развитию гипоксии и так называемым ночным «заморам» рыб (Богданов Н. И., Асанов А. Ю., 2011). Негативные последствия этого явления требуют разработки технологий направленного воздействия на ликвидацию гипоксических осложнений в организме рыб, особенно при их переходе к экзогенному питанию.

В настоящее время подращивание рыбопосадочного материала на старте предполагает кормление личинок искусственными кормами и является одним из

наиболее важных технологических этапов. От его успешности во многом зависят темпы роста и резистентность организма рыб к заболеваниям инфекционной и неинфекционной этиологии на более поздних этапах онтогенеза (Мирзоева Л. М., 2000; Алексеенко А. А., 2006; Желтов Ю. А., 2006; Скляр В. Я., 2008). Анализ результатов практической деятельности большинства аквакультурных предприятий и личный опыт автора диссертационного исследования позволяют признать, что качество большинства существующих отечественных стартовых комбикормов для карпа не в полной мере соответствует предъявляемым к ним требованиям. Как показывают данные публикаций, во многом это обусловлено особенностями технологических процессов приготовления корма (Мирзоева Л. М., 2000; Гутиева З. А., 2005; Волкова И. В., 2006; Скляр В. Я., 2008). В частности, действие высоких температур и давления на его белковый компонент вызывают глубокие изменения структуры нативного протеина (Трофимова, Л. Н., 1975; Сорвачёв, К. Ф., 1982). Логично предположить, что действие указанных физических факторов снижает биодоступность белка для клеток несформированной в морфофункциональном отношении пищеварительной системы личинок рыб (Турецкий В. И., Ильина И. Д., Канидьев А. Н., 1988; Кокоза А. А., Загребина О. Н., Блинков Б. В., 2012). Это предположение требует экспериментальной проверки, главным результатом которой должно явиться не столько подтверждение или опровержение сделанного предположения, а раскрытие механизмов нарушения пищеварения при кормлении искусственными кормами личинок рыб и поиск возможных методов и подходов для оптимизации пищеварительных процессов молоди рыб.

В условиях малых аквакультурных предприятий гипоксия может оказывать серьезное влияние на эффективность использования стартовых кормов (Желтов Ю. А., Алексеенко А. А., 2006). Как известно, разобшение окислительного фосфорилирования при гипоксии приводит к повышенному образованию активных метаболитов кислорода, развитию в организме рыб окислительного стресса и повреждению клеток органов пищеварительной системы личинок (Медведев Ю. В., Толстой А. Д., 2000; Макеев А. А., Сахаров А. В., Обогрелова М. А., Кеберлайн О. В., Просенко А. Е., 2010). Свободнорадикальное повреждение клеток особенно важно при переходе личинок на экзогенное питание искусственными стартовыми кормами, и требует разработки научно обоснованных подходов к обеспечению антирадикальной защиты рыб путём использования антиоксидантных соединений. Следует отметить, что в настоящее время применение антиоксидантов ограничивается их использованием для стабилизации липидов, входящих в состав корма. Данные о применении антиоксидантных соединений для оптимизации физиологических процессов в организме личинок рыб и профилактики развития окислительного стресса в научной литературе единичны. Остаются не изученными и свободнорадикальные механизмы повреждения клеток органов пищеварительной системы личинок рыб. Между тем, разработка научных основ применения антиоксидантов при выращивании личинок рыб необходима для поиска путей повышения эффективности рыбопроизводства,

что и определяет актуальность проведения данного диссертационного исследования.

1.2. Цель исследования – изучить влияние антиоксиданта «Тиофан» в составе искусственного стартового корма на морфофункциональные характеристики органов желудочно-кишечного тракта личинок и сеголеток карпа.

Задачи исследования:

1. Провести сравнительное морфофункциональное исследование кишечника личинок карпа при их подращивании с использованием на старте декапсулированных яиц *Artemia salina* и стартового искусственного корма для карпа с добавлением антиоксиданта «Тиофан».

2. Изучить активность процессов липопероксидации и функциональное состояние системы антиоксидантной защиты в организме личинок карпа при их подращивании с использованием на старте декапсулированных яиц *Artemia salina* и искусственного корма с добавлением антиоксиданта «Тиофан».

3. Оценить пролонгированный эффект применения антиоксиданта «Тиофан» в составе искусственно стартового корма для оптимизации процессов липопероксидации и морфофункционального состояния тканей кишечника и гепатопанкреаса сеголетков карпа.

1.3. Научная новизна. Впервые исследовано свободнорадикальное перекисное окисление липидов и активность системы антиоксидантной защиты в организме личинок карпа при различных методах кормления на старте. Впервые представлена сравнительная морфофункциональная характеристика кишечника личинок карпа при использовании на старте яиц *Artemia salina* и искусственного стартового корма с добавлением антиоксиданта «Тиофан». Впервые изучен пролонгированный эффект применения антиоксиданта «Тиофан» для оптимизации антиоксидантного статуса и функционального состояния органов пищеварительной системы сеголетков карпа при выращивании в выростных прудах с нестабильным гидрохимическим режимом.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Кормление личинок карпа на этапе подращивания искусственными стартовыми кормами в водоемах с нестабильным по кислороду гидрохимическим режимом сопровождается активацией процессов свободнорадикального перекисного окисления липидов, напряжением функциональной активности системы антиоксидантной защиты в организме личинок и снижением функциональной активности эпителия слизистой оболочки кишечника.

2. Использование стартового корма с антиоксидантом «Тиофан» снижает уровень окислительного стресса в тканях кишечника, повышает функциональную активность клеток эпителия слизистой оболочки кишечника и дает преимущества в показателях роста и развития личинок по сравнению с контролем.

3. Полученные у личинок карпа преимущества в темпах роста и развития на старте при подращивании на искусственных кормах с введением в их состав антиоксиданта «Тиофан» имеют пролонгированный эффект и сохраняются у сеголетков карпа в течение 4 месяцев выращивания в водоемах с нестабильным по кислороду гидрохимическим режимом.

1.4. Теоретическая и практическая значимость. Теоретическая значимость полученных результатов исследования заключается в уточнении роли активных метаболитов кислорода в механизме развития сублетальных повреждений печени рыб при их выращивании на искусственных кормах. Показана высокая биологическая и экономическая эффективность применения полифункционального антиоксиданта нового поколения «Тиофан» для защиты органов пищеварительной системы личинок и сеголеток карпа от окислительного стресса. Установлена причинно-следственная связь между уровнем активности свободнорадикального перекисного окисления липидов в желудочно-кишечном тракте рыб и их пластическими показателями в соответствии с рекомендациями Правдина И. Ф. (1966). Разработан новый метод антирадикальной защиты личинок карпа в условиях гипоксии, который оказывает протективный эффект на клетки кишечника и гепатопанкреаса карпа при искусственном разведении в водоемах с нестабильным содержанием кислорода. Введение в состав стартового корма антиоксиданта «Тиофан» позволяет оптимизировать функциональную активность тканевых элементов кишечника и через данный механизм повысить уровень биодоступности компонентов искусственного корма для клеток органов пищеварительной системы личинок карпа. Показано наличие пролонгированного эффекта от применения на старте антиоксиданта «Тиофан» в форме сохранения преимущества в росте и массе тела у сеголеток через 4 месяца выращивания в водоемах с суточными колебаниями кислорода в воде.

1.5. Реализация результатов исследования. Результаты диссертационного исследования относительно влияния различных технологий подращивания на морфофункциональные характеристики пищеварительной системы личинок и сеголетков карпа используются в лекционных курсах «Биология клетки», «Патология клетки», «Воспроизводство водных биологических ресурсов», читаемых в Новосибирском государственном педагогическом университете. Разработанный метод антирадикальной защиты личинок карпа при подращивании на старте внедрен в практическую деятельность рыбоводного племенного хозяйства ООО «Агрофирма Маяк».

1.6. Апробация результатов исследования. Материалы диссертации доложены и обсуждены на региональной научно-практической конференции «Зоологические чтения» (Новосибирск, 2012 – 2013), VIII Всероссийской научно-практической конференции «Проблемы биологии и биологического образования в педагогических вузах» (Новосибирск, 2013).

1.7. Публикации. По материалам диссертации опубликовано 5 работ, в том числе 2 – в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ.

1.8. Структура и объём работы. Диссертационная работа изложена на 119 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, который включает 226

источника, из них 199 российских и 27 – зарубежных авторов и приложение. Работа иллюстрирована 25 рисунками и 3 таблицами.

1.9. Личный вклад. Весь объём работ по набору, обобщению и анализу экспериментального и теоретического материалов был проведён автором самостоятельно. Выражаю глубокую благодарность за консультативную и техническую помощь соавторам опубликованных работ. За ценные советы в проведении ультраструктурных исследований выражаю благодарность Рябчиковой Елене Ивановне (Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН).

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальная часть диссертационного исследования выполнялась на базе специализированного рыбоводного предприятия ООО «Агрофирма Маяк» Алтайского края. В соответствии с технологическим регламентом данного рыбоводного предприятия личинок рыб после вылупления кормили каждый час науплиусами артемии в течение первых 3-х суток в расчёте 100% от массы тела личинок, затем рыб перевели на питание декапсулированной артемией. Согласно протоколу эксперимента было создано три группы животных. Личинок 1-ой опытной группы в течение всего периода подращивания (12 суток) кормили декапсулированной артемией, постепенно снижая суточную норму кормления к окончанию периода подращивания с 50 до 30% от массы тела личинок. Личинки 2-ой опытной группы 3 раза в сутки вместо декапсулированной артемии получали стартовый корм марки «AQUAREX» с содержанием антиоксиданта «Тиофан», суточная доза которого составила 100 мг/кг массы тела. Личинки контрольной группы по аналогичной схеме 3 раза в сутки получали стартовый корм марки «AQUAREX», не содержащий антиоксидант «Тиофан». Кратность кормления составляла каждые 2 часа в течение суток. Личинок рыб всех групп содержали в бассейнах с проточной водой, подаваемой из естественных водоёмов. Средняя температура воды в течение всего периода наблюдения составила 23,3⁰С, а суточные колебания содержания кислорода в воде от 4,5 г/л в ночное время суток до 10 г/л днём. Количество личинок в каждом бассейне составило 500 тысяч особей. В течение всего периода подращивания производилось взятие проб экспериментального материала для проведения макроморфометрического, морфологического, ультраструктурного и биохимического анализов, а также контроля за поедаемостью естественного и искусственного корма. После окончания периода подращивания личинок всех групп высаживали в выростные пруды, и их дальнейшее содержание осуществлялось без кормления искусственными кормами, а исключительно за счёт естественных ресурсов каждого из водоёмов. Рыбы всех групп были рассажены в равные по площади, гидрохимическому режиму воды, количеству и качеству естественной кормовой базы водоёмы. Плотность посадки в каждом из водоёмов составила 30 тыс. шт. / га. Через 4 месяца после начала эксперимента пруды сливались, а сеголетков карпа перемещали в зимовальные пруды. При

отлове рыб производилось взятие проб для изучения сеголетков по схеме, аналогичной протоколу изучения личинок.

Изучение основных пластических признаков всех групп личинок ($n=150$) и сеголетков карпа ($n=300$) осуществлялось по 5-ти и 7-ми параметрам соответственно (Правдин И. Ф., 1966). Ростовые показатели личинок измерялись с помощью комплекса программ Axio Vision (Karl Zeiss, Германия).

Для проведения морфологического анализа личинок всех групп ($n=150$) и образцы органов пищеварительной системы сеголетков ($n=150$) фиксировали в 10% нейтральном формалине, проводили по стандартной методике, заливали в парафин и монтировали на блоки. На ротационном полуавтоматическом микротоме CUT 5062 (Германия) изготавливали серийные срезы толщиной 5-6 мкм и монтировали на предметные стекла с помощью смеси белка с глицерином (1:1). Срезы окрашивали гематоксилином Бёмера и эозином, кислые гликозоаминогликаны выявляли при реакции с альдиановым синим по Стивену, окраска на коллаген проводилась по методу Маллори, нейтральные жиры выявлялись с помощью гистохимической реакции с суданом III (Семченко В. В., 2003). Срезы изучали методами световой микроскопии в проходящем свете на микроскопе Olimpus BH-2 (Япония).

Для проведения анализа ультраструктурных характеристик клеток пищеварительной системы личинок и сеголетков карпа материал фиксировали в параформе и проводили по стандартной для трансмиссионной электронной микроскопии методике (Уикли Б., 1975). Ультратонкие срезы (50-60 нм) контрастировали 4%-ным водным раствором уранил-ацетата и 1%-ным раствором цитрата свинца и изучали на электронном микроскопе JEM – 1400 (Япония).

Образцы тканей для биохимического анализа подвергались моментальной заморозке. Содержание первичных и вторичных продуктов свободнорадикального перекисного окисления липидов, а также активность ферментов антиоксидантной защиты определяли в гомогенатах тканей личинок и органов пищеварительной системы сеголетков методами спектрофотометрии при соответствующих длинах волн по общепринятым методикам (Стальная И. Д., 1977; Чевари С., 1985; Корольюк М. А., 1988; Laihia J. K., 1993; М. И. Душкин, 1998; Камышников В. С., 2003).

Гидрохимический режим воды по содержанию кислорода при подрачивании личинок и содержанию сеголетков в выростных прудах определяли по методике Винклера (Гидрохимический контроль в рыбоводных хозяйствах, 1992; Кузьмина В. В., 2007).

Статистическая достоверность различий данных разных экспериментальных групп оценивали методом вариационной статистики по t -критерию Стьюдента и считали достоверными при $p \leq 0,05$. Все расчёты проведены по общепринятым формулам (Лакин Г. Ф., 1980) с использованием пакета программ Microsoft Excel 2007.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Морфофункциональная характеристика кишечника личинок карпа при различных методах подращивания

Использование науплиусов и декапсулированных яиц *Artemia salina* для кормления объектов пресноводной аквакультуры при переходе на смешанное, а затем внешнее питание во многом определяет успешность прохождения молодью рыб последующих стадий онтогенеза. Это обусловлено содержанием в организме данных беспозвоночных животных легкодоступного для гидролиза пищеварительными ферментами белка с оптимальным для роста и развития рыб аминокислотным составом, а также высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). Преимущества применения *Artemia salina* для кормления различных видов рыб на старте широко освещены в отечественной и зарубежной литературе и использование данного корма считается «золотым стандартом» при искусственном разведении гидробионтов (Воскресенский К. А., 1968; Гусев Е. Е., 1991; Таранов А. Г., 2008). Работы, посвящённые морфофункциональной характеристике органов пищеварительной системы личинок карпа при кормлении данным видом ракообразных в доступной литературе единичны, что явилось основанием для проведения данного исследования.

При изучении гистологических препаратов переднего отдела кишечника личинок рыб после трёх суток кормления науплиусами и при переходе на питание декапсулированной артемией обнаружено значительное наполнение полости данного отдела пищеварительной трубки яйцами *Artemia salina*. Это особенно заметно по различному состоянию складчатости эпителия слизистой оболочки кишечника в его дорсальном и вентральном отделах. Анализ содержимого в данном отделе кишечника показал, что у личинок 1-ой опытной группы среди компонентов содержимого пищеварительной трубки преобладают яйца артемии с признаками различного уровня перевариваемости – от частичного до полного. Это особенно хорошо заметно на ультраструктурном уровне – в просвете кишечника идентифицируются фрагменты пищи с глубокими деструктивными изменениями. Как и на светооптическом уровне, в кишечнике заметны крупные фрагменты с низким уровнем переваривания.

В образцах среднего отдела кишечника 1-ой опытной группы яйца артемии находятся на завершающем этапе переваривания. Под оболочкой яйца отсутствуют его компоненты, а остатки непереваренного материала в виде мелких гранул адгезированы на апикальной поверхности энтероцитов. Высокая функциональная активность пищеварительной системы личинок рыб данной группы в отношении расщепления органического материала декапсулированной артемии находит отражение на морфологическом уровне. При детальном исследовании структурных компонентов слизистой оболочки переднего и среднего отделов пищеварительной трубки общей закономерностью для данных отделов кишечника является наличие в цитоплазме многочисленных вакуолей. На обзорных препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, часть вакуолей выглядит оптически прозрачными, другие заполнены гомогенным

веществом. При электронно-микроскопическом исследовании образцов данных отделов кишечника, обнаруженные на светооптическом уровне вакуоли представляют собой три вида структур. Первые две имеют, как правило, округлую или овальную форму и представляют собой капли липидов диаметром 1,5-2,5 мкм. На ультраструктурном уровне идентифицируются две разновидности липидов. Одни имеют высокую электронную плотность, другие – низкую, что вероятно обусловлено преобладанием в их структуре полиненасыщенных жирных кислот. Третья структура, которая в проходящем свете представляется как оптически прозрачная вакуоль, при электронной микроскопии имеет неправильную форму и представляет собой поля гликогена, который лишь частично сохранился после обработки в растворах этилового спирта при проведении пробоподготовки. Отличительной особенностью исследуемых образцов кишечника является локализация липидов преимущественно в области апикального полюса энтероцитов.

Электронно-микроскопическое изучение стенки кишечника выявило энтероциты с хорошо развитой структурой. Заметно, что клетки эпителия соединяются замыкающими комплексами, на апикальной плазмалемме определяются многочисленные микроворсинки, образующие щеточную каемку. Латеральные поверхности клеток соединяются редкими интердигитациями и десмосомами. Ядра энтероцитов округлые, располагаются центрально, с высоким содержанием хроматина. На срезах встречается отчетливое хорошо развитое ядрышко. Цитоплазма энтероцитов имеет среднюю электронную плотность и содержит большое количество свободных рибосом и полисом. Среди мембранных органелл преобладают узкие цистерны гранулярной эндоплазматической сети (гЭПС), которые формируют сеть канальцев различной протяженности. В цитоплазме клеток идентифицируются единичные лизосомы, заполненные гомогенным веществом различной электронной плотности. В клетке преобладают митохондрии, имеющие плотно упакованные кристы, расположенные в матриксе высокой электронной плотности. Об участии эпителиальных клеток данных отделов пищеварительной трубки в трансмембранном переносе макромолекулярных соединений из просвета кишечника во внутриклеточную среду указывает наличие в цитоплазме обилия опущенных пузырьков и мультивезикулярных телец.

Результаты исследования образцов кишечника личинок контрольной группы показали, что степень наполняемости кормом и степень переваривания яиц артемии в переднем отделе кишечника существенно не отличается от соответствующих показателей личинок 1-ой опытной группы. Вместе с тем, состояние искусственного гранулированного корма в просвете переднего и среднего отделов кишечника позволяет говорить о низком уровне его переваривания под воздействием пищеварительных ферментов. Об этом свидетельствуют неровные контуры гранул и незначительное изменение их формы в процессе мацерации при движении по пищеварительной трубке. Гранулы искусственного корма практически не изменяют своих тинкториальных свойств по мере перемещения из переднего в средний отдел, где, как известно,

происходят основные процессы пищеварения и всасывания нутриентов. При анализе эпителиоцитов переднего и среднего отделов кишечника на светооптическом уровне выраженных различий с аналогичными клетками кишечника личинок рыб 1-ой опытной группы не обнаруживается. Однако, при электронно-микроскопическом исследовании выявлены существенные различия структуры энтероцитов. Так, оптически прозрачные участки цитоплазмы, которые определяются в световом микроскопе как прозрачные вакуоли, представляют собой капли липидов, имеющих сравнительно высокую электронную плотность (высокая осмиофильность), что предполагает содержание в них насыщенных жирных кислот. В образцах личинок 1-ой опытной группы, которых кормили исключительно декапсулированной артемией, капли липидов имели более низкую электронную плотность. Кроме того, локализация капель липидов в клетках личинок контрольной группы отличается от 1-ой опытной группы – они обнаруживаются преимущественно в базальной части и у базолатеральной поверхности энтероцитов. При отсутствии большого количества липидов в цитоплазме хорошо заметно их скопление в лимфатических сосудах, расположенных в строме собственной пластинки слизистой оболочки кишечника. Кроме вакуолей, заметных в цитоплазме клеток в проходящем свете оптически прозрачные участки цитоплазмы на уровне ультраструктуры представлены полями гликогена, как и в аналогичных образцах кишечника личинок 1-ой опытной группы.

Ультраструктура энтероцитов личинок контрольной группы в отличии от образцов тканей личинок 1-ой опытной группы характеризовалась расширением цистерн гЭПС, которые были заполнены материалом средней электронной плотности. Среди энтероцитов располагались отдельные бокаловидные клетки, секрет которых выделялся в полость кишечника.

При сравнении гистологических препаратов кишечника личинок рыб 2-ой опытной группы с контролем, а так же с 1-ой опытной группой, обнаружены ярко выраженные отличия уровня наполнения кишечника кормом и степени его переваривания. На обзорных препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, а также по методу Маллори, отчётливо видно, что при низком наполнении кишечника кормом в переднем и среднем отделе наблюдаются активная переваривание артемии, искусственного корма и зоопланктона. Очевидные признаки повышенной функциональной активности элементов пищеварительной системы рыб 2-ой опытной группы по сравнению с образцами кишечника рыб остальных групп заметно не отражаются на светооптическом и ультраструктурном уровнях. Характерным морфологическим признаком эпителия слизистой оболочки кишечника личинок данной группы является наличие выраженной полярности окрашивания эпителиоцитов. В области апикального полюса клетки цитоплазма имеет интенсивное базофильное окрашивание, что свидетельствует о высоком содержании в данном компартменте рибосом и РНК. На базальном полюсе энтероцитов видны оптически прозрачные участки, не имеющие строго определённой геометрической формы. Этим морфологическим особенностям клеток

эпителия соответствуют ультраструктурные характеристики энтероцитов. На электронограммах видно, что цитоплазма энтероцитов в области апикального полюса клетки заполнена большим количеством рибосом, и имеет более высокую электронную плотность по сравнению с цитоплазмой базального полюса. К апикальной плазмалемме примыкает слой гомогенной зернистой цитоплазмы, содержащей многочисленные мелкие везикулы. Видимые на гистологических препаратах оптически прозрачные участки цитоплазмы на электронно-микроскопическом уровне представлены небольшими полями гликогена и, в отличие от аналогичных образцов рыб двух других групп, мелкими липидными каплями средней осмиофильности диаметром до 1 мкм. В цитологической структуре энтероцитов личинок 2-ой опытной группы не выявлено деструктивных изменений, все органоиды имеют нормальное строение.

Проведенные исследования морфофункционального состояния кишечника личинок карпа фактически демонстрируют результат применения трех методов подращивания молоди рыб на старте. Несмотря на то, что два из них – кормление артемией и искусственными стартовыми кормами являются известными, сравнительной оценки состояния эпителиа слизистой оболочки и изменений двух видов корма в процессе переваривания в полости кишечной трубки не проводилось. Результаты наблюдений позволяют сделать несколько заключений. Первое касается несоответствия наблюдений на световом и электронно-микроскопическом уровнях. Видимые на светооптическом уровне вакуоли на уровне ультраструктуры представляют собой липиды и поля гликогена. Во-вторых, опираясь на данные литературных источников в отношении использования на старте артемии в качестве «золотого стандарта», высокое содержание в цитоплазме эпителиоцитов личинок данной группы липидов с низким уровнем осмиофильности позволяет считать данный признак отражением транспорта большого количества ненасыщенных жирных кислот в клетку вследствие активного переваривания яиц артемии. Интенсивность их переваривания убедительно демонстрируется на гистологических препаратах. Об активных процессах транспорта нутриентов из просвета кишечника в клетки кишечного эпителиа свидетельствуют многочисленные вакуоли в примембранной области и мультивезикулярные тельца. Кроме того, на высокий уровень пищеварения указывает развитая система микроворсинок на апикальном полюсе. Важная роль данных органелл в обеспечении процессов примембранного пищеварения общеизвестна и не вызывает сомнений.

Совершенно иначе представлены морфофункциональные характеристики клеток эпителиа кишечника личинок карпа при сочетанном кормлении их артемией и искусственными стартовыми кормами. Судя по низкому уровню переваривания искусственного корма в просвете кишечника, можно утверждать, что пищеварительная система личинок не в состоянии обеспечить полное переваривание искусственных кормов и, как следствие, рациональное использование органических веществ корма для обеспечения функций организма. Локализация липидов с высоким уровнем осмиофильности

преимущественно в области апикального полюса энтероцитов может указывать на несовершенство полостного пищеварения. Наличие липидных включений, очевидно, состоящих преимущественно из ненасыщенных жирных кислот (интенсивная осмиофильность) может являться прямым следствием низкого уровня полостного пищеварения и недостаточностью поступления белков, что приводит к недостаточности в клетке транспортеров жирных кислот. На ультраструктурном уровне развитая система микроворсинок в клетках эпителия кишечника личинок данной группы не имеет отличий от аналогичных образцов личинок 1-ой опытной группы, которых кормили исключительно артемией. Это указывает на отсутствие различий по уровню примембранного пищеварения у личинок данных групп.

В связи с тем, что особенностью подращивания личинок являлся нестабильный по кислороду режим водной среды (табл. 1), гипоксия и, как следствие, повышение активности свободнорадикальных процессов, рассматриваются нами в качестве основных механизмов повреждения субклеточных структур, обеспечивающих синтез пищеварительных ферментов и их внутриклеточный транспорт.

Таблица 1

Показатели газового режима в бассейнах для подращивания личинок карпа

Время суток	Содержание кислорода, мг/л		
	Контрольная группа	1-я опытная группа	2-я опытная группа
10.00	5,9±0,35	6,3±0,74	6,5±0,97
16.00	8,4±1,12	9,1±1,26	8,9±2,11
4.00	3,8±0,43	4,2±0,57	3,9±0,77

На участие свободнорадикальных механизмов в повреждении клеток эпителия кишечной трубки личинок контрольной группы косвенно указывают также расширенные цистерны гЭПС, которые обнаруживаются исключительно в образцах личинок данной группы. Наличие в просвете гранулярного материала средней электронной плотности не обязательно является отражением высокой синтетической активности. Неоднородность материала и его накопление в просвете цистерн могут быть обусловлены повреждением мембран гЭПС свободными радикалами и накоплением секреторного продукта в полости данной органеллы.

Для доказательства сделанных заключений потребовалось применение метода биохимического анализа. Главной его целью являлась оценка состояния процессов липопероксидации и системы антиоксидантной защиты в организме личинок данных групп в течение всего периода подращивания. Полученные результаты показали, что содержание первичных продуктов свободнорадикального перекисного окисления липидов (СПОЛ) в организме личинок 1-ой опытной группы достоверно не менялось и поддерживалось на

стабильно низком уровне. В образцах личинок контрольной группы на 3-и сутки эксперимента отмечается возрастание содержания в тканях диеновых конъюгатов (ДК), и данная тенденция сохраняется до окончания срока наблюдения. У личинок 2-ой опытной группы на 3-и сутки наблюдений аналогично происходит резкое возрастание содержания ДК. Важно отметить, что значения ДК в 2,5 раза достоверно превышает данный показатель образцов личинок 1-ой опытной группы. В последующие сроки наблюдения содержание первичных продуктов СПОЛ в исследуемых образцах личинок 2-ой опытной группы достоверно снижается по сравнению с контролем и к концу периода подращивания достигает своих первоначальных значений (рис. 1 А).

При биохимическом анализе содержания вторичных продуктов СПОЛ резких колебаний данного параметра у личинок 1-ой опытной группы нами не обнаружено. У рыб контрольной группы на 3-и сутки эксперимента уровень содержания малонового диальдегида (МДА) на 23% возрастает по сравнению с началом кормления и остается достоверно выше, чем аналогичный показатель в образцах личинок карпа 1-ой опытной группы на всех сроках отбора проб. В гомогенатах тканей личинок 2-ой опытной группы отмечается схожая динамика – пик повышения содержания МДА приходится на 3-и сутки эксперимента, и сохраняются достоверно высокие показатели по сравнению с 1-ой опытной группой в течение 3-6-х суток наблюдения. На 9-12-е сутки уровень содержания вторичных продуктов СПОЛ в тканях личинок данной группы не имеет достоверных отличий от аналогичных образцов личинок карпа 1-ой опытной группы. В конце периода подращивания этот показатель остается достоверно ниже, чем аналогичные показатели личинок контрольной группы (рис. 1 Б).

В связи с тем, что повышение уровня первичных и вторичных продуктов СПОЛ в тканях личинок при использовании искусственного стартового корма должно обеспечиваться соответствующим синтезом ферментов антиоксидантной защиты, проведен анализ активности ключевых ферментов системы антиоксидантной защиты в тканях личинок карпа всех групп. При изучении активности каталазы (КАТ) обнаружено, что в организме личинок 1-ой опытной группы на всех сроках отбора проб не происходит существенных изменений активности данного параметра.

В тканях личинок контрольной и 2-ой опытной групп активность фермента к 3-м суткам кормления снижается, по сравнению с первоначальными показателями, в среднем на 52%. На последующих сроках отбора проб существенного повышения уровня активности КАТ в контрольной группе не отмечается и до конца периода подращивания остаётся на достоверно низком уровне по сравнению с 1-ой и 2-ой опытными группами. На 6-е сутки уровень активности КАТ во 2-ой опытной группе повышается в 1,7 раза по сравнению с аналогичным показателем на предыдущем сроке отбора проб и до конца эксперимента остаётся на достоверно высоком уровне по сравнению с показателями личинок контрольной группы (рис. 2 А).

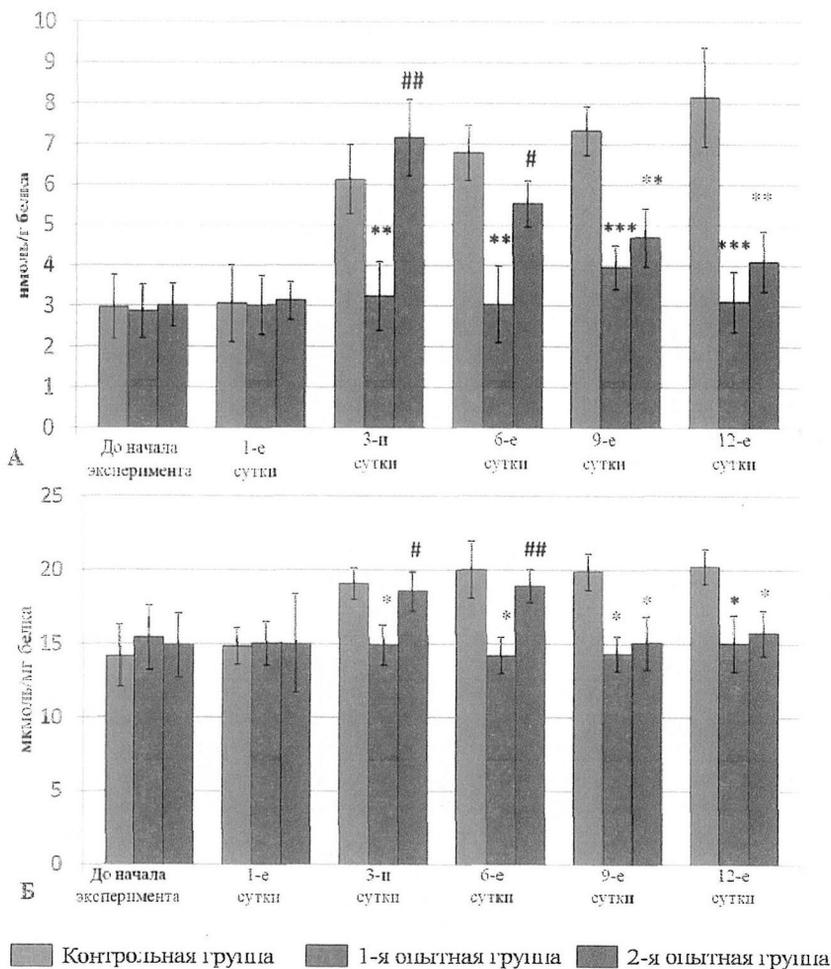


Рис. 1. Показатели уровня свободнорадикального перекисного окисления липидов в организме личинок. А – содержание ДК, Б – содержание МДА.

Примечание: достоверные различия между показателями контрольной и опытными группами (* $p \leq 0,05$ ** $p \leq 0,01$ *** $p \leq 0,001$); достоверные различия между показателями опытных групп ($p \leq 0,05$, $^{##}p \leq 0,01$, $^{###}p \leq 0,001$).

Уровень активности супероксиддисмутазы (СОД) в образцах личинок карпа, подращиваемых исключительно на яйцах *Artemia salina* в течение всего периода наблюдения характеризуется стабильно высокими показателями на всех точках отбора проб. У особой контрольной группы на 3-и сутки эксперимента отмечается снижение показателя активности СОД на 33% и до конца эксперимента значения активности сохраняют достоверно низкий показатель по сравнению с исследуемыми образцами личинок 1-ой и 2-ой опытных групп. У особей, получавших антиоксидант «Тиофан» в составе искусственного стартового корма, активность СОД с момента начала эксперимента к 3-им суткам снизилась на 42% и к 6-м суткам подращивания активность фермента имела достоверно низкое значение по сравнению с аналогичными пробами личинок 1-ой опытной группы. В период от 9-и до 12-х суток эксперимента активность СОД в группе рыб возрастает, и её значение не имеет достоверных отличий от аналогичных образцов личинок 1-ой опытной группы (рис. 2 Б).

Таким образом, у личинок карпа контрольной и 2-ой опытной группы, подращиваемых на искусственных стартовых кормах, на 3-и сутки эксперимента отмечается повышение уровня первичных и вторичных продуктов СПОЛ и снижение активности ферментов системы антиоксидантной защиты. Согласно законам классической свободнорадикальной биологии данное состояние определяется как окислительный стресс. Правомочность данного заключения основывается на показателях, которые рассматриваются как стандарт. За стандарт принимаются значения всех биохимических показателей окислительного стресса личинок 1-ой опытной группы. Основанием является сохранение в данной группе стабильных значений продуктов СПОЛ и ферментов антиоксидантной защиты в течение всего периода подращивания.

Проведенные морфологические и биохимические исследования показали, что ключевая роль в нарушении структуры и функций кишечника личинок карпа принадлежит активным кислородным метаболитам (АКМ). Введение в состав искусственного корма антиоксиданта «Тиофан» приводит к повышению активности пищеварительных процессов. Высокая степень гидролиза пищи в просвете кишечника, которая определяется на светооптическом и ультраструктурном уровнях, свидетельствует о высокой активности пищеварительных ферментов.

Результаты исследования личинок трех групп по 5 пластическим признакам показали, что использование антиоксиданта «Тиофан» в составе стартового корма в течение 12 суток подращивания через механизм антирадикальной защиты оптимизируют процессы гидролиза пищеварительных субстратов в кишечнике. Следует отметить, что у личинок карпа 2-ой опытной группы по сравнению с двумя другими обнаруживается более ранний их переход к питанию зоопланктоном.

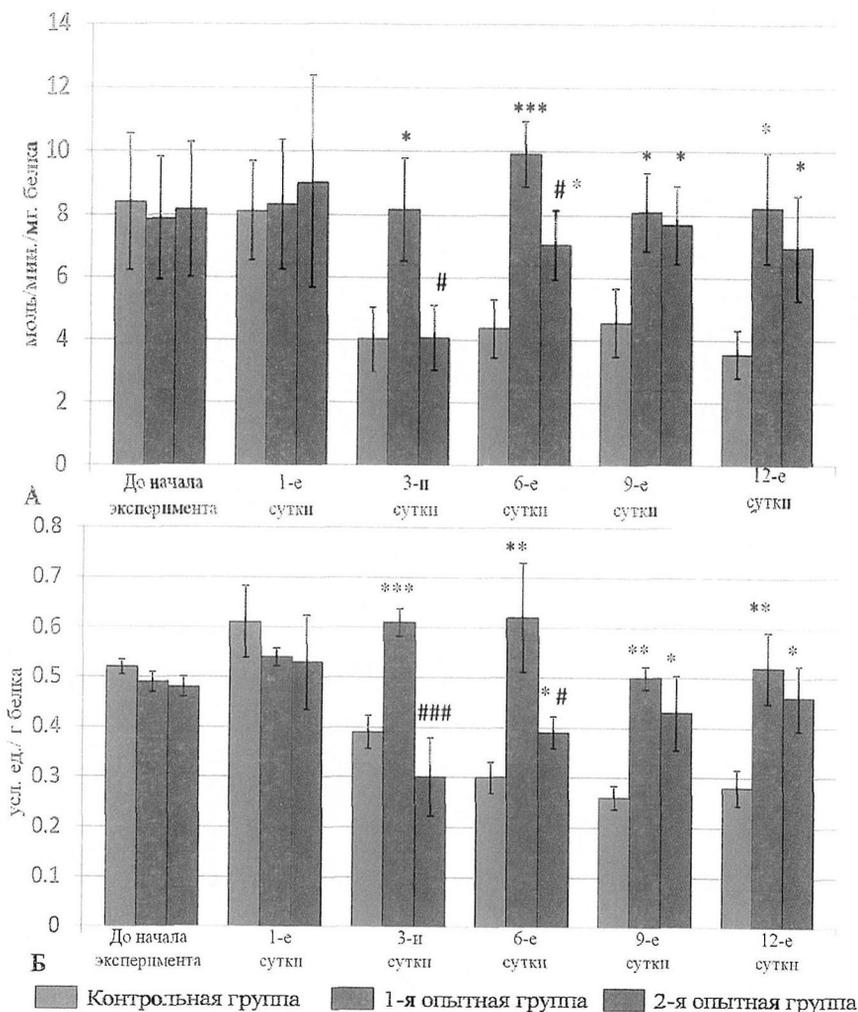


Рис. 2. Показатели активности системы антиоксидантной защиты личинок карпа. А – активность КАТ, Б – активность СОД.

Примечание: достоверные различия между показателями контрольной и опытными группами ($p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ *** $p \leq 0,001$); достоверные различия между показателями опытных групп (# $p \leq 0,05$, ## $p \leq 0,01$, ### $p \leq 0,001$).*

По основным макроморфометрическим показателям между особями данной группы и личинками, которых кормили исключительно артемией достоверных отличий нами обнаружено не было. В тоже время, личинки контрольной группы имеют достоверно низкие показатели роста и веса по сравнению с 1-ой опытной группой на 36,2 % и 30,07 % соответственно, а особям 2-ой опытной группы уступают по данным показателям на 31,05% и 28,01 % соответственно. При равных биологических показателях совершенно очевидно, что при средней рыночной стоимости 1 кг яиц декапсулированной артемии 5000 рублей, и 1 кг «Тиофан» 1500 рублей (рекомендуемая доза 100 мг/кг массы), искусственного стартового корма – 72,82 руб./кг, прослеживается не только биологическая, но и высокая экономическая эффективность разработанного метода подращивания личинок карпа на старте.

3.2. Морфофункциональная характеристика кишечника и гепатопанкреаса сеголетков карпа при выращивании в условиях депрессивных водоёмов

Использование разработанного метода антиоксидантной защиты и полученные преимущества у личинок на старте доказали его высокую биологическую и экономическую эффективность. Отсутствие сведений относительно сохранения эффективности применения нового метода в отдаленные сроки потребовало проведения анализа антиоксидантного статуса и морфофункциональной характеристики органов пищеварительной системы у сеголетков карпа, выращенных с использованием трех методов.

Результаты исследования показали, что по основным ростовым характеристикам карпы обеих опытных групп имеют достоверные различия от группы контроля (таблица 2).

Таблица 2

Основные пластические признаки сеголетков карпа

Показатель	Контрольная группа	1-я опытная группа	2-я опытная группа
Масса тела, г	35,73±3,08	58,41±8,23*	54,17±6,83*
Длина общая, см	16,05±1,46	25,04±2,61*	22,25±1,73*
Длина туловища, см	10,75±1,82	18,40±2,08*	15,91±1,08*
Длина головы, см	3,57±0,64	4,34±0,87	3,74±0,69
Высота тела, см	5,95±0,52	8,38±0,78*	8,16±0,62*
Ширина тела, см	1,71±0,22	2,89±0,34*	2,66±0,25*
Обхват, см	9,38±1,41	15,7±1,79*	15,04±1,52*

Примечание: достоверные различия по сравнению с контролем при (* $p \leq 0,05$).

Для обоснования различий рыб контрольной и опытных групп по макроморфометрическим показателям был проведён гистологический анализ образцов печени и всех отделов кишечника рыб.

При анализе печени рыб контрольной группы обнаруживаются признаки изменения гистоархитектоники паренхимы. В центрлобулярной и интермедиарной зонах дольки печени заметна дисконплектация печёночных балок. На гистологических препаратах данные участки печени характеризуются чрезмерно расширенными синусоидными капиллярами, которые, как правило, заполнены плазмой крови. Клетки эндотелия имеют признаки набухания. В области дисконплектации печёночных балок гепатоциты имеют полигональную форму и характеризуются наличием в цитоплазме крупных оптически прозрачных вакуолей, которые смещают ядро к периферии клетки. При постановке гистохимической реакции с суданом III на липиды данные вакуоли идентифицируются как крупные липидные капли. Совокупность морфологических признаков указывает на наличие в печени фокальной крупнокапельной жировой дистрофии.

Одной из особенностей гепатоцитов центрлобулярной зоны доли является наличие в цитоплазме, кроме крупных суданпозитивных капель, многочисленных мелких оптически прозрачных вакуолей. Их содержимое не имеет положительной реакции при окрашивании на нейтральные жиры. В отдельных клетках заметны крупные вакуоли, заполненные бесструктурным гомогенным веществом. Такие гепатоциты увеличены в объёме и имеют признаки набухания.

Результаты морфологического анализа образцов печени рыб контрольной группы показывают, что клетки паренхимы данного органа имеют признаки жировой дистрофии. Наличие данных изменений в гепатоцитах центрлобулярной зоны свидетельствует о развитии сублетальных повреждений клеток, ответственных, как известно, за детоксикацию и синтез ферментов антиоксидантной защиты.

В связи с тем, что в условиях депрессивных водоёмов сеголетки в течение всего летнего периода были подвержены действию суточных колебаний содержания кислорода в диапазоне от 4,5 до 10 мг/л и, как следствие, гипоксия рассматривается нами в качестве основного этиологического фактора, обуславливающего повреждение клеток паренхимы печени. В основе нарушения жирового обмена в клетках печени, с нашей точки зрения, лежит единый морфогенетический механизм – СПОЛ. Одним из доказательств свободнорадикального повреждения структурных элементов печени является наличие отчётливо идентифицируемых признаков нарушения водно-ионного гомеостаза в строме данного органа на участке локализации поджелудочной железы. Окружающая поджелудочную железу соединительная ткань содержит обширные участки отека.

На обзорных препаратах гепатопанкреаса рыб 2-й опытной группы видно, что паренхима печени сохраняет типичное балочное строение. Характерным признаком повреждения печени рыб этой группы является наличие участков, в

которых расширены синусоидные капилляры. При детальном морфологическом исследовании структурной организации центролобулярной и интермедиарной зонах долики печени обнаруживаются, в отличие от аналогичных образцов печени рыб контрольной группы, признаки мелкокапельной жировой дистрофии. Гепатоциты содержат в цитоплазме мелкие оптически прозрачные вакуоли. При гистохимической окраске суданом III вакуоли идентифицируются как мелкие капли нейтральных жиров. Анализ степени повреждения гепатоцитов всех зон печени, показывает, что жировая дистрофия преимущественно локализована в центролобулярной зоне.

При проведении ультраструктурного анализа гепатоцитов рыб обеих групп установлено, что в гепатоцитах перипортальной зоны, кроме редких жировых капель, присутствуют обширные участки, занятые гликогеном. При светооптическом исследовании эти участки имеют неровные контуры, цитоплазма выглядит «пустой». Следует отметить, что клетки, содержащие большие участки, занятые гликогеном, не имеют ультраструктурных признаков повреждения и сохраняют целостность мембранных органелл. Проведенное исследование печени рыб показывает, что при интерпретации данных светооптического исследования следует учитывать наличие и гликогена, обычно занимающего крупные участки цитоплазмы в форме неровных очертаний, и капель жира, имеющих отчетливо сферическую форму и разные размеры.

Использование морфологических методов для оценки состояния гепатопанкреаса рыб, которые на старте имели преимущества перед особями контрольной группы в части обеспечения антирадикальной защиты организма антиоксидантом «Тиофан», позволяют сделать важное заключение. Использование полифункционального серосодержащего антиоксиданта нового поколения «Тиофан» в составе стартового корма для карпа обеспечивает пролонгированный гепатопротекторный эффект у особей 2-ой опытной группы в течение 4 месяцев наблюдения. Эффект проявляется в сохранении типичного гистологического строения печени рыб и отсутствии ярко выраженных признаков сублетального повреждения.

Изучение препаратов кишечника животных обеих групп выявило схожие с наблюдаемыми в печени закономерности в нарушении структурно-функциональной организации слизистой оболочки кишечника карпов контрольной группы. В эпителии и соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки обнаружены морфологические признаки нарушения водно-ионного гомеостаза, что позволяет заключить, что именно эти нарушения лежат в основе повреждения структурных элементов кишечной трубки. При сравнительном анализе образцов переднего отдела кишечника рыб опытной и контрольной группы выраженных различий на светооптическом уровне не обнаруживается.

В среднем отделе кишечника, который отвечает не только за процессы пищеварения, но и всасывания продуктов деградации органических соединений, наблюдаются наиболее выраженные нарушения структуры кишечника в образцах рыб контрольной группы. Нарушение полярности строения эпителия,

локальное разрушение базальной мембраны эпителия и отёк межклеточного вещества собственной пластинки являются типичными признаками для образцов кишечника рыб данной группы. В аналогичных образцах кишечника рыб опытной группы признаки нарушения водно-ионного гомеостаза определяются лишь в цитоплазме эпителиоцитов. На высокую функциональную активность данного отдела у рыб опытной группы указывает расширение капилляров собственной пластинки при отсутствии повреждения базальной мембраны эпителия слизистой оболочки и отёка стромы эпителия кишечных ворсинок. Особенностью морфологии среднего отдела кишечника животных обеих групп является минимальная вакуолизация цитоплазмы эпителиоцитов.

Морфологических различий в структуре заднего отдела кишечной трубки у животных обеих групп не обнаружено.

Для доказательства ключевой роли АКМ в сохранении пролонгированного эффекта у рыб, выращенных с применением нового метода, использовали определение уровня содержания в тканях первичных и вторичных продуктов СПОЛ и оценивали активность ключевых ферментов антиоксидантной защиты в гомогенатах кишечника (рис. 3 А, Б, В, Г).

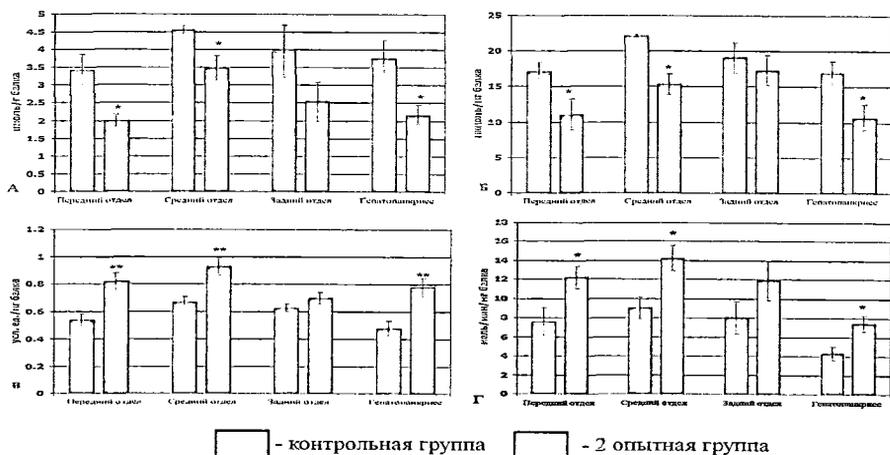


Рис. 3. Содержание продуктов свободнорадикального окисления и показатели активности системы антиоксидантной защиты в гомогенатах тканей разных отделов кишечника и гепатопанкреаса рыб: А – содержание малонового диальдегида; Б – содержание диеновых конъюгатов; В – активность супероксиддисмутазы; Г – активность каталазы.

Примечание – достоверное различие опытной группы относительно контрольной группы (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$).

Результаты исследования показали, что содержание первичных (ДК) и вторичных (МДА) продуктов СПОЛ в гомогенатах печени рыб 2-ой опытной

группы, по сравнению с контролем, достоверно ниже на 42 % и 37 % соответственно (рис. 3 А, Б). Активность ключевых ферментов системы антиоксидантной защиты СОД и КАТ в гепатопанкреасе рыб опытной группы превышает аналогичные показатели рыб контрольной группы на 38% и 42% соответственно (рис. 3 В, Г). При этом суммарное содержание ДК и МДА в переднем и среднем отделе кишечника рыб опытной группы на 31% и 33% соответственно ниже, чем в контроле (рис. 3 А, Б). Суммарная активность СОД и КАТ в переднем и среднем отделе кишечника у рыб опытной группы превышает аналогичные показатели образцов рыб контрольной группы на 30% и 37% соответственно (рис. 3 В, Г). В заднем отделе кишечника рыб опытной группы так же прослеживается тенденция к уменьшению содержания МДА и ДК, повышению концентрации КАТ в ткани и активности СОД по сравнению с контролем.

ВЫВОДЫ

1. Кормление личинок карпа на этапе подращивания искусственными стартовыми кормами без применения метода антирадикальной защиты в водоемах с нестабильным по кислороду гидрохимическим режимом сопровождается снижением функциональной активности эпителия слизистой оболочки кишечника.

2. Использование стартового искусственного корма с введением в его состав антиоксиданта «Тиофан» при подращивании личинок карпа в водоемах с нестабильным по кислороду гидрохимическим режимом, обеспечивает высокий уровень функциональной активности клеток кишечного эпителия, которые по морфофункциональной характеристике не имеют достоверных различий от личинок рыб, выращенных с применением на старте в качестве корма *Artemia salina*.

3. Использование стартового искусственного корма с введением в его состав антиоксиданта «Тиофан» защищает структурные элементы кишечника личинок карпа от окислительного стресса, и к окончанию периода подращивания обеспечивает отсутствие достоверных различий по уровню липопероксидации и активности ключевых ферментов антиоксидантной защиты от аналогичных показателей личинок рыб, выращенных с применением на старте в качестве корма *Artemia salina*.

4. Использование метода антиоксидантной защиты организма личинок карпа на старте обеспечивает пролонгированный эффект в отношении высокого антиоксидантного статуса и активности структурных элементов пищеварительной системы, параметров роста сеголетков карпа в течение последующих четырёх месяцев.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для оптимизации процессов пищеварения при разведении карпа в условиях аквакультуры рекомендуется использование антиоксидантной защиты организма личинок на старте.

2. Для повышения темпов роста сеголетков карпа при их подращивании на искусственных стартовых кормах рекомендуется применение антиоксидантной защиты личинок на старте.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

В журналах, рекомендованных ВАК РФ:

1. **Кобылинская, А. Д.** Роль свободнорадикального перекисного окисления липидов в механизме развития жировой дистрофии печени рыб при выращивании на искусственных кормах / А. Д. Кобылинская, А. В. Сахаров, А. А. Макеев, А. Е. Просенко, Ю. В. Сафьянов // Вестник КрасГАУ. – 2013. - №3. С. 123-128.

2. **Кобылинская, А. Д.** Изучение отсроченного эффекта антиоксиданта «Тиофан» у сеголетков карпа при его использовании в составе стартовых кормов / А. Д. Кобылинская, А. В. Сахаров, А. А. Макеев, А. Е. Просенко // Современные проблемы науки и образования. – 2013. - № 5. - URL: <http://www.science-education.ru/111-10038>.

В других изданиях:

3. **Обогрелова, М. А.** Влияние свободнорадикальных процессов на морфофункциональную характеристику кишечника карпа при дифференциальных технологиях выращивания в аквакультуре / М. А. Обогрелова, **А. Д. Кобылинская**, Е. А. Леонова // Сборник научных работ студентов и молодых ученых. Выпуск XII [электронный ресурс]. – Новосибирск: НГПУ. – 2011.

4. **Кобылинская, А. Д.** Использование антиоксидантных соединений для оптимизации функциональной активности пищеварительной системы рыб при моделировании окислительного стресса в аквариальных экспериментах // Сборник научных работ студентов и молодых ученых. Выпуск XII [электронный ресурс]. – Новосибирск: НГПУ. – 2011.

5. **Кобылинская, А. Д.** Использование антиоксиданта «Тиофан» в составе стартового корма для оптимизации морфофизиологических показателей сеголетков карпа / А. Д. Кобылинская, А. В. Сахаров, А. А. Макеев, А. Е. Просенко // Материалы Международной научно-практической конференции «Свободные радикалы и антиоксиданты в химии, биологии и медицине». – 2013 – С. 81-82.

Подписано в печать 12.09.13. Формат бумаги 60×84/16.
Печать RISO. Уч.-изд.л. 1,3. Усл. п.л. 1,5. Тираж 100 экз.
Заказ № 50.

Педуниверситет, 630126, Новосибирск, Виллюйская, 28