



005051047

На правах рукописи

*Обо*

**ОБОГРЕЛОВА  
МАРИНА АЛЕКСАНДРОВНА**

**ВЛИЯНИЕ АКТИВНЫХ КИСЛОРОДНЫХ МЕТАБОЛИТОВ НА  
МОРФОГЕНЕЗ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ  
ЗЕРКАЛЬНОГО КАРПА**

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

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

Саранск – 2013

Работа выполнена на кафедре химии 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  
**Шубина Ольга Сергеевна**  
заведующая кафедрой биологии и спортивной медицины ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный педагогический институт им. М. Е. Евсевьева», г. Саранск.
- кандидат биологических наук, доцент  
**Громова Наталья Васильевна**  
доцент кафедры биохимии ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва», г. Саранск.
- Ведущая организация:** ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов», г. Москва

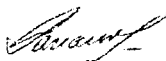
Защита диссертации состоится «14» февраля 2013 г. в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.117.15 при ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва» по адресу: г. Саранск, ул. Большевикская, 68.

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](http://www.mrsu.ru) и интернет-сайте ВАК <http://vak2.ed.gov.ru>  
Автореферат разослан «14» января 2013 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

2



Романова Т. А.

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**1.1. Актуальность темы.** Рыбоводство является одной из наиболее рентабельных отраслей сельскохозяйственного производства, ориентированной на обеспечение потребностей населения в доступном животном белке. В этой связи, особая роль принадлежит пресноводной аквакультуре, направленной на организацию и развитие товарного рыбоводства (Гордеев, А. В., 2005; Алексеев А. П., 2007; Багров А. М., 2008).

Считается, что разведение рыб в контролируемых условиях аквакультуры позволяет достичь более высоких показателей выживаемости и темпов роста молоди рыб, по сравнению с их воспроизводством путем естественного нереста (Моисеев П. А., 1975; Канидьев А. Н., 1984; Новиков Г. Н., 2000). В соответствии со Стратегическим планом развития аквакультуры до 2020 г. малым фермерским рыбоводным хозяйствам отводится важная роль в развитии рыбопромышленного комплекса (Багров А. М., 2004, 2008). Основой их развития служат малые водохранилища, пруды и небольшие озера, которые в весенне-летний период характеризуются нестабильным гидрохимическим режимом. Использование в весенне-летний период водозабора для инкубации и подращивания молоди из естественных водоемов с высоким содержанием фитопланктона несет угрозу суточного колебания газового режима в водной среде, обусловленную прохождением ночной фазы фотосинтеза и развитием гипоксии в организме гидробионтов (Константинов А. С., 1989, 1998; Зданович В. В., 1994).

Считается, что связанные с гипоксией «ночные заморы» рыб являются следствием несовершенных механизмов их адаптации к абиотическим факторам среды (Зданович В. В., 1994; Константинов А. С., 1998; Гутиева З. А., 2005). В этой связи разработка и внедрение в практическую сферу деятельности инновационных технологий разведения объектов прудового рыбоводства, направленных на повышение адаптации рыб к действию абиотических факторов среды, является одним из приоритетных направлений развития аквакультуры (Гамыгин Е. А., 2001; Гутиева З. А., 2005).

Карп относится к наиболее распространенному представителю семейства рыб, акклиматизированных к сложным природно-климатическим условиям Западной Сибири. Современные методы аквакультуры позволяют значительно увеличить выход предличинок из икры, в среднем на 25 дней раньше нерестовых сроков, что особенно важно для Сибирского региона. Однако невысокое качество рыбопосадочного материала является одним из главных факторов снижения экономической эффективности прудового рыбоводства (Донченко А. С., 2011).

Анализ причинно-следственных отношений между влиянием абиотических факторов среды и высокими показателями гибели рыб на ранних этапах онтогенеза достаточно широко представлен в публикациях отечественных и зарубежных авторов (Владимиров В. И., 1974; Зданович В. В., 1994; Крылов Г. С., 2004; Гутиева З. А., 2005; Багров, 2008, и др). Вместе с тем, роль свободнорадикального перекисного окисления липидов в

механизмах структурно-функциональных нарушений клеток различных тканей эмбрионов рыб в критические фазы эмбрионального развития в литературных источниках освещена крайне недостаточно (Ведемейер Г. А., 1981; Исуев А. Р., 1990; Барабой В. А., 1992).

Изучение состояния липопероксидации в тканях эмбрионов карпа при суточных колебаниях кислородного режима в воде, а также оценка возможности управления данными процессами в их организме антиоксидантом «Тиофан» в критические фазы развития позволит уточнить роль свободнорадикальных процессов в морфогенезе пищеварительной системы зеркального карпа. В связи с высокой ролью пищеварительной системы в обеспечении роста и развития особи настоятельной необходимостью является проведение ультраструктурных исследований клеток, обеспечивающих процессы внутриклеточного пищеварения на ранних этапах онтогенеза.

С точки зрения фундаментальной биологии, изучение влияния активных кислородных метаболитов на формирование органов пищеварительной системы рыб позволит подойти к решению проблемы управления морфогенетическими процессами в организме рыб на ранних этапах онтогенеза.

Важно отметить, что исследования отдаленных последствий влияния технологических процессов на организм рыб при их разведении в условиях аквакультуры в литературных источниках представлены крайне недостаточно (Микряков В. Р., 2001, 2008; Силкина Н. И., 2006, 2009). Это явилось основанием для изучения адаптивного потенциала клеток тканей и органов пищеварительной системы сеголеток карпа в условиях транспортного стресса, полученных при традиционной технологии искусственного разведения и с применением антирадикальной защиты рыб в критические фазы эмбрионального развития.

Отсутствие эффективных технологий управления свободнорадикальными процессами в организме рыб на ранних этапах онтогенеза, а так же информации в отношении влияния свободнорадикальных процессов на морфофункциональное состояние органов пищеварительной системы карпа определяют актуальность настоящего исследования.

**1.2. Цель исследования** – изучить влияние активных кислородных метаболитов на морфофункциональную характеристику органов пищеварительной системы зеркального карпа.

**Задачи исследования:**

1. Изучить состояние процессов липопероксидации и функциональное состояние системы антиоксидантной защиты у эмбрионов и личинок алтайского зеркального карпа, полученных при традиционной технологии аквакультуры и с использованием антирадикальной защиты эмбрионов карпа в критические фазы развития.

2. Исследовать особенности морфогенеза пищеварительной системы алтайского зеркального карпа, полученного при традиционной технологии аквакультуры и с использованием антирадикальной защиты эмбрионов карпа в критические фазы развития.

3. Оценить влияние транспортного стресса на морфофункциональное состояние кишечника и гепатопанкреаса сеголеток алтайского зеркального карпа, полученных при традиционной технологии искусственного разведения и с применением антирадикальной защиты рыб в критические фазы развития.

**1.3. Научная новизна.** Впервые установлено влияние суточных колебаний кислородного режима в воде на состояние процессов свободнорадикального перекисного окисления липидов и активность системы антиоксидантной защиты зеркального карпа в критические фазы эмбрионально-личиночного развития. Впервые предложена новая технология антирадикальной защиты эмбрионов карпа в критические фазы развития с использованием антиоксиданта «Тиофан». Впервые представлена морфофункциональная характеристика органов пищеварительной системы алтайского зеркального карпа в раннем периоде онтогенеза, полученного при традиционной технологии искусственного разведения и с применением антирадикальной защиты эмбрионов рыб в критические фазы развития. Впервые исследовано влияние окислительного стресса на морфофункциональную характеристику органов пищеварительной системы сеголеток зеркального карпа в условиях транспортной нагрузки. На модели транспортного стресса впервые доказана эффективность использования антиоксиданта «Тиофан» для оптимизации свободнорадикальных процессов и снижения показателей летальных и сублетальных повреждений клеток тканей кишечника и гепатопанкреаса рыб породы алтайский зеркальный карп.

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

1. Изменение газового режима воды в процессе инкубации икры в условиях ночной фазы фотосинтеза приводят к активации свободнорадикального перекисного окисления липидов и повреждению зародышевого и внезародышевого компонентов яйца по свободнорадикальному механизму.

2. Использование антиоксиданта «Тиофан» в критические фазы эмбрионального развития снижает уровень свободнорадикального перекисного окисления липидов в тканях предличинок и личинок алтайского зеркального карпа и оказывает протективный эффект на клетки органов пищеварительной системы.

3. Применение антиоксиданта «Тиофан» в критические фазы эмбрионального развития обеспечивает увеличение темпов роста и развития рыб, по сравнению с контролем в течение последующих 5 месяцев развития и оказывает пролонгированный защитный эффект в отношении клеток кишечника и гепатопанкреаса рыб в условиях транспортного стресса.

**1.4. Научно-практическая значимость работы.** Разработана новая технология антирадикальной защиты эмбрионов карпа в критические фазы развития с использованием антиоксиданта «Тиофан».

С точки зрения фундаментальной биологии, полученные результаты доказывают высокую роль свободнорадикального перекисного окисления липидов в морфогенезе органов пищеварительной системы зеркального карпа.

С точки зрения прикладной биологии, применение антирадикальной защиты эмбрионов рыб в критические фазы развития повышает процент выхода предличинок из икры на 33,57 % и увеличивает линейные размеры личинок на 28,23 %, а сеголеток по массе в 2,28 раза по сравнению с традиционной технологией аквакультуры. Использование технологии антирадикальной защиты рыб в критические фазы развития позволяет сеголеткам карпа сохранять полученные преимущества в раннем онтогенезе и повысить устойчивость тканей органов пищеварительной системы к воздействию транспортного стресса в течение первых 5 месяцев жизни. Использование новой технологии антирадикальной защиты рыб снижает показатели окислительного стресса у эмбрионов, личинок и сеголетков карпа, а так же оказывает протективный эффект на клетки органов пищеварительной системы.

**1.5. Реализация результатов исследования.** Результаты диссертационного исследования относительно влияния активных форм кислорода на морфогенез пищеварительной системы зеркального карпа используются в лекционных курсах «Биология клетки», «Патология клетки», «Воспроизводство водных биологических ресурсов», читаемых в Новосибирском государственном педагогическом университете. Разработанная экспериментальная технология антирадикальной защиты рыб в критические фазы эмбрионального развития внедрена в практическую деятельность рыбоводного племенного хозяйства ООО «Маяк» и ФГБУ «Верхнеобьрыбвод».

**1.6. Апробация результатов исследования.** Материалы диссертации доложены и обсуждены на «Зоологических чтениях» (Новосибирск, 2010-2012), XLVIII международной научной студенческой 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), «Экология Южной Сибири и сопредельных территорий» (Абакан, 2011-2012).

**1.7. Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 7 печатных работ, в том числе 3 – в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ.

**1.8. Структура и объем работы.** Диссертационная работа изложена на 123 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов, практических предложений, библиографического списка цитируемой литературы, который включает 202 источника, из них 147 российских и 55 – зарубежных авторов и приложения. Работа иллюстрирована 39 рисунками и 4 таблицами.

**1.9. Личный вклад.** Весь объем работ по набору, анализу и обобщению экспериментального и теоретического материалов был проведен автором самостоятельно. Соавторы опубликованных работ оказывали консультативную и техническую помощь, за что выражаю им глубокую благодарность.

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

Исследования проводили в соответствии с договором о научном сотрудничестве с рыболовным предприятием «Маяк» Алтайского края на эмбрионах, личинках и сеголетках рыб породы алтайский зеркальный карп. Икру, полученную от одной самки и оплодотворенную половыми продуктами одного самца, помещали для обесклеивания молоком в два аппарата Вейса по 100 тыс. икринок в каждом. Первый аппарат был контрольным, второй – опытным. В опытном аппарате икру обрабатывали суспензией 1%-го масляного раствора «Тиофан» в течение 10 минут за полчаса до наступления соответствующей критической фазы эмбрионального развития. Точки отбора проб совпадали с 4 критическими фазами развития, которые приходились на 1,5, 7, 9 и 60 часов эмбриогенеза (Васнецов В. В., 1953; Лужин Б. Г., 1976-1977, Макеева А. П., 1992). В контрольном аппарате икру обрабатывали масляной суспензией без содержания антиоксиданта «Тиофан» в аналогичные временные интервалы. Все исследования проводили в 10 повторах.

Наблюдение за развитием эмбрионов и личинок карпа осуществляли на нативных препаратах. Для морфогистохимического анализа материал фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина и после обезвоживания в растворе «Isoprep» заливали в гистомикс (Histomix, Biovitrum, Россия). На санном микротоме изготавливали серийные срезы толщиной 5-10 мкм и монтировали на предметные стекла смесью белка с глицерином (1:1). Для изучения морфофункционального состояния клеток и тканей эмбрионов, личинок и сеголеток карпа срезы окрашивали гематоксилином Бемера и эозином. Кислые гликозаминогликаны (ГАГ) выявляли алыциановым синим по Сиддмену (Пирс Э., 1962).

Для изучения ультраструктурных характеристик икры и клеток эмбрионов карпа материал фиксировали в параформе и далее проводили по стандартной для трансмиссионной электронной микроскопии методике. Полутонкие срезы окрашивали азуром и изучали в проходящем свете. Ультратонкие срезы (50-60 нм) после контрастирования 4%-ным водным раствором уранил-ацетата и 1%-ным раствором цитрата свинца

просматривали на электронном микроскопе JEM – 1400 производства Японии.

Оценку состояния процессов пищеварения у личинок карпа осуществляли методом полуколичественного анализа на гистологических препаратах кишечника, выполненных в сагиттальной плоскости по пятибальной системе, где: 0-отсутствие переваривания пищевых частиц; 1-слабое переваривание пищевых частиц; 2-умеренное переваривание пищевых частиц; 3-интенсивное переваривание пищевых частиц; 4-полное переваривание пищевых частиц. При этом, оценивалась степень переваривания фито- и зоопланктона по наличию или отсутствию морфологических признаков беспозвоночных животных и водорослей, находящихся в полости пищеварительной трубки.

Для изучения адаптивного потенциала сеголеток, полученных по традиционной и новой технологии, рыбы обеих групп через 5 месяцев после выклева тестировали на модели транспортного стресса. Для проведения морфологических и биофизических исследований у них извлекали гепатопанкреас, передний, средний и задний отделы кишечника.

Измерение морфометрических параметров проводили с помощью комплекса программ AxioVision (KarlZeiss, Германия).

Для изучения распределения биогенных катионов в кишечнике и гепатопанкреасе карпа соответствующие образцы тканей подвергали криоконсервации и далее исследовали на содержание Na, K, Ca методом атомно-эмиссионного анализа с индуктивно связанной плазмой по методике измерений МУК 4.1.1482-03 «Определение химических элементов в биологических средах и препаратах методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой».

Контроль качества анализа осуществлялся путем проведения анализа испытуемых проб и стандартного образца состава мышечной ткани байкальского окуня Бок-2 и сравнением его результатов с аттестованным содержанием элементов.

Содержание кислорода в воде определяли по методике Винклера (Гидрохимический контроль в рыбоводных хозяйствах, 1992; Кузьмина, 2007). Биохимические параметры окислительного стресса определяли в гомогенатах тканей рыб спектрофотометрически при соответствующей длине волны по общепринятым методикам (Lowry O, 1951; Стальная И. Д., 1977; М. А. Королук и др. 1988; Laihia J. K., 1993; М. И. Душкин, 1998).

Статистическую обработку данных проводили на основе вычисления средних арифметических ( $\bar{x}$ ) и их ошибок ( $Sx$ ). Различия показателей животных экспериментальных групп по сравнению с таковыми контрольных животных оценивали методом вариационной статистики по t-критерию Стьюдента и считали достоверными при  $p \leq 0,05$ . Все расчеты проводили по общепринятым формулам (Г. Ф. Лакин, 1980) с использованием пакета программ Microsoft Excel 2007.



### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

#### 3.1. Состояние процессов свободнорадикального перекисного окисления липидов у эмбрионов и личинок зеркального карпа при использовании антиоксиданта «Тиофан» в критические фазы эмбрионального развития

В связи с тем, что на малых аквакультурных предприятиях водозабор для инкубации и подращивания молоди осуществляется из естественных водоемов с высоким содержанием фитопланктона, это несет угрозу суточного колебания газового режима в водной среде. Недостаточная оксигенация тканей эмбрионов и личинок рыб по данным литературных источников приводит к развитию гипоксии, разобщению окислительного фосфорилирования, генерации АКМ и запуску процессов СПОЛ в организме эмбрионов и личинок рыб (Трифорова А. Н. 1954, 1958; Титарева Л. Н., 1994; Скулачев В. П., 1996; Хочачка П., 1977; Силкина Н. И., 2006). Это явилось основанием для изучения динамики колебаний содержания в воде кислорода в течение всего периода инкубации и подращивания личинок карпа.

Результаты исследований показали (табл. 1), что в промежутке от 4.00 до 16.00 часов отмечается максимальное колебание содержания кислорода в воде. С нашей точки зрения, снижение содержания кислорода в воде в ночное время на 86, 2% от его максимального значения в дневные часы может приводить к гипоксии и увеличению уровня липопероксидации в организме эмбрионов.

Таблица 1

Показатели температурного и газового режимов в инкубационных аппаратах

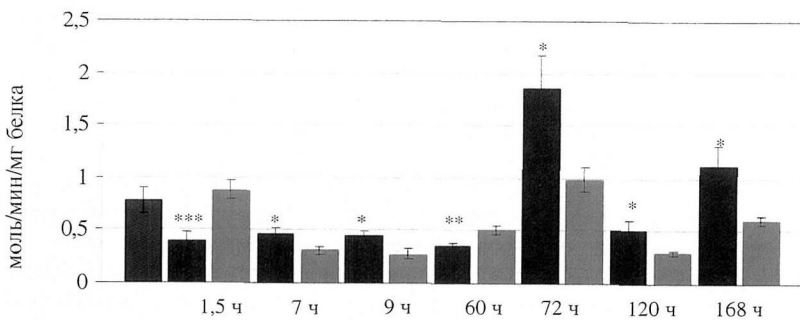
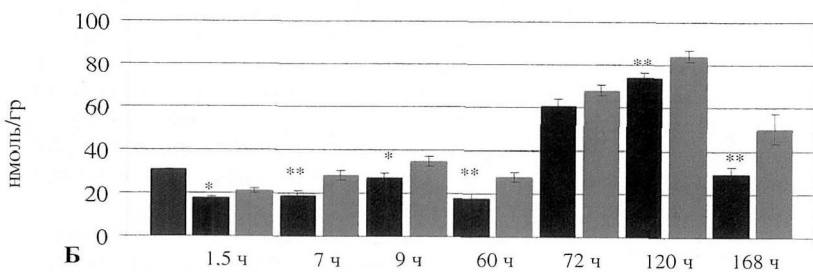
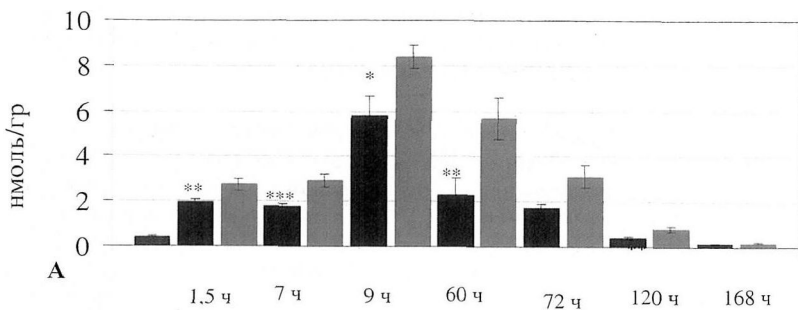
| Сутки | Температура воды в инкубационном аппарате в различное время суток, С° |       |      | Содержание кислорода (по методу Винклера) в инкубационном аппарате в различное время суток, мг/л |       |      |
|-------|---|-------|------|--|-------|------|
|       | 10.00   | 16.00 | 4.00 | 10.00  | 16.00 | 4.00 |
| 1     | 22,7  | 24,2  | 21,1 | 8,9  | 10,8  | 6,7  |
| 2     | 23,0  | 24,5  | 21,7 | 8,6  | 10,7  | 6,3  |
| 3     | 22,5  | 23,9  | 20,8 | 7,7  | 9,7   | 6,2  |
| 4     | 22,3  | 23,8  | 20,8 | 8,2  | 9,6   | 6,1  |
| 5     | 22,6  | 24,1  | 21,2 | 7,1  | 9,5   | 5,8  |
| 6     | 22,8  | 24,3  | 21,4 | 8,4  | 9,9   | 6,8  |
| 7     | 22,9  | 24,2  | 21,2 | 9,1  | 10,2  | 7,2  |

Результаты биохимического анализа гомогенатов тканей эмбрионов карпа позволяют считать, что в исследуемых образцах контрольной группы

во всех точках отбора проб содержание первичных – ДК и вторичных продуктов перекисного окисления липидов – МДА превышает аналогичные значения опытной группы. При этом, увеличение уровня ДК происходило в период от 1,5 час до 9 час эмбриогенеза, а затем снижалось в обеих группах (рис. 1 А). На сроке 168 час показатель уровня ДК в опытной и контрольной группе не имел различий. Динамика изменения содержания вторичных продуктов СПОЛ имела обратную зависимость. Содержание МДА в образцах тканей эмбрионов и личинок карпа обеих групп имели минимальные показатели в интервале от 1,5 час до 9 час развития, а затем содержание МДА увеличивалось до максимальных значений на сроке 120 часов постэмбрионального развития (рис. 1 Б).

Данные биохимических исследований позволяют сделать заключение о том, что при суточном колебании оксигенации в инкубационной среде и снижение уровня кислорода в воде приводит к запуску реакций СПОЛ в богатых субстратом для окисления гранулах желтка эмбрионов, а в период личиночного развития – липидов мембранных органелл. В связи с тем, что реакции СПОЛ являются цепными, то данный процесс не завершается после завершения эмбрионального периода и сохраняется на протяжении 168 часов после оплодотворения. Кроме того, снижение уровня ДК в образцах икры и личинок рыб опытной группе в точках отбора 1,5, 7, 9, 60, 72, 120 и 168 часов на 27,8%, 39,9%, 30,6%, 59,9%, 45,04%, 49,3% и 25 % соответственно по сравнению с контролем, доказывает высокую эффективность использования антиоксиданта «Тиофан» для управления процессами липопероксидации в организме эмбрионов и личинок карпа. В связи с тем, что процессы СПОЛ в организме регулируются системой антиоксидантной защиты, то исключая сроки 1,5 и 60 часов снижение активности каталазы в контроле по сравнению с опытом (рис. 1 В), а также превышение уровня ДК и МДА в контрольной группе, позволяет считать, что в указанные временные промежутки развития эмбрионы и личинки группы контроля испытывают влияние окислительного стресса.

Результаты биохимического исследования позволяют сформулировать положение о том, что используя многократную доставку антиоксиданта «Тиофан» в икру карпа до наступления критических фаз развития, за счет его выраженного антирадикального и противопероксидного действия снижается уровень развития свободнорадикальных процессов, а следовательно, снижается влияние активных кислородных метаболитов на зародышевый и внезародышевый компоненты яйца. Принимая во внимание, что антиоксидант «Тиофан» не обладает кумулятивным эффектом и достаточно быстро выводится из организма, его положительное влияние на уровень липопероксидации, как следует из результатов исследования, ограничивается 7 сутками постэмбрионального развития. Вместе с тем, полученные преимущества в отношении антирадикальной защиты эмбрионов требуют верификации с использованием методов морфологического анализа.



**В**  
 – оплодотворенная икра  
 – опыт  
 – контроль

Рис. 1. Содержание продуктов свободнорадикального перекисного окисления липидов и активность системы антиоксидантной защиты в образцах икры, эмбрионах и личинках зеркального карпа: А – диеновые конъюгаты; Б – малоновый диальдегид; В – активность каталазы.

Примечание: достоверное различие опытной группы относительно контрольной группы (\*  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$ ; \*\*\*  $p \leq 0,001$ )

### **3.2. Морфогенез органов пищеварительной системы эмбрионов и личинок карпа при использовании антиоксиданта «Тиофан» в критические фазы эмбрионального развития**

При отсутствии сформированной первичной кишки на ранних этапах онтогенеза процессы деградации органических веществ у эмбрионов карпа в период дробления и гаструляции обеспечиваются за счет механизмов провизорного пищеварения. На сроке 1,5 часов эмбрионального развития в исследуемых образцах икры карпа опытной группы обнаруживаются морфологические различия с контрольными образцами в отношении темпов дробления и резорбции материала желтка. При анализе нативных препаратов икры обеих групп в проходящем свете обнаруживается преобладание темпов дробления blastomeres в опытной группе, по сравнению с контролем. Характерным признаком яиц карпа контрольной группы на сроке 1, 5 часов эмбрионального развития, является низкая оптическая плотность гранулярных, окрашенных азуром структур желтка. В перивителлиновом пространстве определяются крупные фрагменты резорбированных желточных гранул. В образцах икры опытной группы, в отличие от контроля, blastomeres разделены от ооплазматического материала тонкой полоской гомогенного материала, а в перивителлиновом пространстве идентифицируется мелкогранулярный материал.

При ультраструктурном анализе образцов икры опытной группы в цитоплазме тела эмбриона и ооплазме яйца обнаруживаются многочисленные мелкие везикулы, заполненные гомогенным материалом низкой электронной плотности. Среди трофического материала желтка можно выделить темные и светлые гранулы. На периферии светлых гранул отмечается обилие лизосом, что предполагает участие данных органелл в резорбции светлых гранул. На периферии темных желточных гранул лизосомы не идентифицируются и его деградация сопряжена с формированием типичных полулунных фигур (Дробышева О. И., Морозова К. Н., Реунов А. А., 2006).

В контроле, в отличие от образцов икры опытной группы, через 1,5 часа после оплодотворения в цитоплазме яйца обнаруживаются обширные поля просветленного цитоплазматического матрикса, что является признаком глубоко нарушения водно-ионного гомеостаза в клетке. Мембраны митохондрий не имеют четких контуров, что заметно по чередованию в их структуре участков низкой и высокой электронной плотности. В цитоплазме заметно обилие лизосом, содержащих неоднородный материал. В отличие, от икры опытной группы, обилие в ооплазме яиц контрольной группы лизосом и отсутствие характерных для темных гранул желтка полулуний, позволяет считать, что процессы деградации материала светлых и темных гранул желтка в контроле осуществляется преимущественно за счет ферментов лизосом. Образование полулуний при резорбции темных гранул, а так же наличие мелких округлой

формы светлых участков деградирующего материала в структуре темных гранул яиц опытной группы позволяет говорить об участии эндопротеиназ в деградации материала темных желточных гранул.

Данная закономерность процессов внутриклеточного пищеварения в яйце карпа контрольной и опытной групп сохраняется в течение последующих критических фаз развития, которые приходится на 7 и 9 часов эмбрионального развития.

Обобщая результаты проведенных исследований, полученные при изучении процессов провизорного пищеварения у эмбрионов контрольной и опытных групп, взятых в точках отбора: 1,5 ч, 7 и 9 ч. обнаруживаются ярко выраженные различия в механизмах резорбции трофического материала желтка. В образцах икры контрольной группы, которые подвергались существенным суточным колебаниям кислорода и, следовательно, испытывали действие гипоксии в критические фазы развития, отмечаются признаки свободнорадикального повреждения мембранных органелл клетки, прежде всего, плазматической мембраны. Следствием данного процесса является нарушение функции данного Na/K транспортера и в конечном итоге водно-ионного равновесия. Доказательством этому является наличие в икре контрольной группы обширных полей низкой электронной плотности.

В условиях использования нами подхода антирадикальной защиты эмбрионов карпа в критические фазы развития, структура мембранных органелл яйца не имела признаков явного повреждения, а деградация материала желтка во всех точках отбора проб осуществлялась стабильно с участием лизосом и нелизосомальных систем. В контроле, где не осуществлялась антирадикальная защита эмбрионов, лизосомальная активность по морфологическим признакам, в отношении деструкции материала желтка преобладала над нелизосомальной на несколько порядков.

На стадии гастрюляции, когда происходит закладка осевых органов, в том числе кишечной трубки, а затем в период органогенеза провизорное пищеварение обеспечивается клетками перибласта. По мере расходования им трофических веществ, желточный мешок инвагинирует в тело зародыша. При этом его желточная энтодерма становится частью кишечной стенки, а наружный эктодермальный эпителий входит в состав кожного покрова (Кауфман З. С., 1990; Новиков Г. Н., 2000).

Последующая критическая фаза эмбрионального развития эмбрионов карпа приходится на временной промежуток, охватывающий выход предличинки из икры и ее переход к автономному существованию во внешней среде. Не смотря на наличие сформированной первичной кишки, в данный возрастной период процессы пищеварения осуществляются преимущественно за счет ресурсов трофического материала желточного мешка. При этом, клетки перибласта осуществляют деградацию трофического материала желтка и обеспечивают активный рост и развитие эмбриона. На гистологических и нативных препаратах свободных эмбрионов карпа контрольной группы заметно, что в каудальном отделе желтка

содержание трофического материала значительно ниже, чем в аналогичных образцах животных опытной группы. Данный факт, возможно, объясняется повышенным окислением и расходом материала желтка липидов, а так же белков при окислительном стрессе. При этом высокий распад липидов обусловлен вовлечением ненасыщенных жирных кислот икры в свободнорадикальное окисление. Недостаток липидов в качестве энергетического материала компенсируется повышенным расходом белков. Доказательством повышенного расхода белка у эмбрионов контрольной группы явились данные биохимического анализа по Лоури, которые показали, что содержание белка у предличинок контрольной группы на 49,42 % меньше, чем содержание белка у эмбрионов опытной группы.

Результаты морфогистохимического анализа свидетельствуют, что у животных контрольной группы высокоактивные, в отношении гидролитической активности клетки локализованы в каудальном и лишь при переходе краниального отдела желтка в каудальный. У предличинок опытной группы высокая функциональная активность клеток перибласта в отношении расщепления компонентов желтка регистрируется по наличию гомогенного оксифильного и альцианпозитивного вещества в каудальном отделе, а так же в краниальном отделе со стороны всей вентральной поверхности. Данные признаки позволяют считать, что расход трофического материала у животных опытной группы в данных компартаментах желтка способствует уплощению его формы в дорсо-вентральном направлении. Это обеспечивает формирование у предличинки адаптированной к свободному передвижению более обтекаемой формы тела, по сравнению с контрольными образцами.

На гистологических препаратах животных контрольной группы заметно, что активные клетки перибласта располагаются в краниальном отделе со стороны дорсальной поверхности в области вхождения пищеварительной трубки в полость желточного мешка. Наличие низкого кубического эпителия стенки желточного протока, в отличие, от высокого призматического эпителия кишечной трубки может свидетельствовать об участии эпителия желточного протока лишь в транспорте трофического материала. В провизорном пищеварении клетки желточного протока участия не принимают. Наличие расщепленного клетками перибласта желтка в области желточного протока может указывать на возможность его транспорта в полость в кишки. Однако, на данном этапе развития, в связи с незрелостью пищеварительной трубки, полостное пищеварение не функционирует.

Результаты исследования показали, что локализация активных клеток перибласта совпадает с топографией кровеносных сосудов желточного мешка: кювьеровыми протоками, печеночно-желточной и подкишечно-желточной венами, а так же сосудами тела предличинки: собственно-подкишечной, каудальной веной и сегментарными сосудами хвостового синуса. С нашей точки зрения, это объясняется тем, что в эмбриональный период развития рыб кровеносная система выполняет не столько

дыхательную функцию, а главным образом, осуществляет транспорт трофических веществ. Мощно развитая сеть сосудов и капилляров желточного мешка, а также сосудов тела предличинки карпа опытной группы, по сравнению с группой контроля, может свидетельствовать о более высокой скорости транспорта трофических веществ, а следовательно, провизорного пищеварения.

В связи с тем, что окончание предличиночной стадии развития знаменуется переходом особи на смешенное питание, была проведена оценка морфофункционального состояния кишечника предличинок карпа опытной и контрольной групп и на ультраструктурном уровне.

На сроке 120 часов развития отчетливо заметно, что содержание желтка в образцах опытной группы заметно превышает данный показатель в образцах предличинок контрольной группы. При этом, у особой опытной группы желток уплощен в дорсо-вентральном направлении, а у особой контрольной группы практически резорбирован. Складчатость слизистой оболочки кишечника на ранних этапах морфогенеза пищеварительной трубки является показателем уровня дифференцировки всех его гистологических структур. В этой связи, преобладание данного показателя у предличинок опытной группы, по сравнению с контролем на 25,3 % является доказательством преобладания морфогенетических процессов при формировании кишечника в опытной группе, по сравнению с контрольной. Это заключение подтверждается результатами ультраструктурного анализа.

В связи с тем, что на данном этапе развития провизорным органам пищеварения являются клетки перибласта, а энтероциты кишечника не являются терминально дифференцированными и, следовательно, неспособными к полноценному полостному пищеварению, был проведен анализ их морфофункциональной организации. В образцах опытной группы перибласт представляет собой клетку с развитой гранулярной ЭПС и обилием свободных рибосом, а так же полисом в цитоплазме. В группе контроля клетки перибласта имеют признаки более высокой функциональной активности – цитоплазма характеризуется неравномерной электронной плотностью, среди ее органелл заметно обилие фагосом. При анализе электроннограмм эпителиальных клеток кишечника, заметно, что в просвете кишечника и в области апикальной поверхности эпителиоцитов образцов предличинок опытной группы, отсутствует содержимое переваренных желточных гранул. В аналогичных образцах кишечника контрольной группы отмечается обилие материала желтка. Однако, при ультраструктурном анализе эпителиоцитов образцов контрольной группы, признаков их высокой функциональной активности не отмечается. Полученные результаты позволяют считать, что на сроке 120 часов у предличинок контрольной группы происходит более активная деградация желточных гранул, по сравнению с опытной группой. Следовательно, процесс провизорного пищеварения преобладает в группе контрольных животных, по сравнению с опытной. При этом, различий в функционировании эпителия кишечной

трубки, в частности, по наличию в цитоплазме эндосом у животных обеих групп не отмечается. На основании этого, можно полагать, что содержание в кишечнике продуктов переваривания не гарантирует осуществления полноценного примембранного и полостного пищеварения у предличинок контрольной группы.

Одной из наиболее важных критических фаз в раннем онтогенезе карпа является переход с эмбрионального на личиночный период развития. Результаты исследования эффективности влияния антиоксиданта «Тиофан» на морфофункциональное состояние органов пищеварительной системы зеркального карпа показали, что у личинок карпа в возрасте 168 часов, эмбрионы которых были обработаны антиоксидантом тиофаном и маслом, интенсивность процессов пищеварения имела существенные различия. У личинки карпа контрольной группы в полости кишечника обнаруживаются зоо- и фитопланктон. При этом, результаты гистологического анализа содержимого кишечной трубки позволяют идентифицировать активное участие пищеварительных желез и эпителия кишечника в переваривании фитопланктона. Элементы зоопланктона присутствуют в слабо переваренном виде (табл. 2).

Таблица 2

Состояние трофического материала кишечника личинок карпа на сроке 168 часов

| Степень переваривания пищевых компонентов: | Личинки контрольной группы | Личинки опытной группы |
|--|----------------------------|------------------------|
| Фитопланктон                               | 2,6±0,25                   | 3,8±0,34*              |
| Зоопланктон                                | 0,4±0,85                   | 2,6±0,41*              |

по пятибалльной шкале

\*Статистически достоверные различия между показателями контрольной и опытной групп ( $p \leq 0,05$ ).

Результаты морфогистохимического анализа содержимого пищеварительной трубки личинок карпа, икра которых в процессе инкубации обрабатывалась антиоксидантом «Тиофан» в критические фазы развития, свидетельствуют, что в отличие от контроля, зоо- и фитопланктон находился в интенсивно переваренном состоянии.

При анализе полутонких срезов личинок данного возраста заметно, что количество складок слизистой оболочки кишечника превышает в образцах опытной группе, по сравнению с контрольной (табл. 3). По данным статистического анализа, превышение данного показателя составляет 39,7 % по сравнению с контролем. На уровне ультраструктуры заметно, что в цитоплазме эпителиоцитов опытной группы отмечается высокое содержание эндосом и транспортных везикул в области апикального и базального полюсов клетки, а так же ее базолатеральной поверхности.



Таблица 3

Морфометрические параметры кишечника личинок карпа при традиционной технологии аквакультуры и при использовании антиоксиданта «Тиофан» в критические фазы эмбрионального развития

| Показатели                                      | Личинки контрольной группы | Личинки опытной группы |
|---|----------------------------|------------------------|
| Ширина просвета кишечной трубки, (мкм)          | 102,27 ± 2,05              | 115,68 ± 4,94*         |
| Высота клеток эпителия, (мкм)                   | 15,71 ± 1,02               | 16,78 ± 0,95           |
| Количество складок слизистой оболочки кишечника | 5,31 ± 0,44                | 7,42 ± 1,02*           |

\*Статистически достоверные различия между показателями контрольной и опытной групп ( $p \leq 0,05$ ).

Данные морфологические признаки свидетельствует о высокой функциональной активности энтероцитов в отношении транспорта веществ из просвета кишечника в кровь и лимфу. В аналогичных образцах кишечника личинок контрольной группы обращает внимание наличие участков с расширенными цистернами ЭПС, в которых не содержится белковый продукт. Транспортные везикулы немногочисленны, в цитоплазме встречаются участки с признаками нарушения водно-ионного гомеостаза.

Полученные результаты ультраструктурного анализа позволяют считать, что у животных опытной группы морфогенез пищеварительной системы опережает контрольную группу. При этом, наличие признаков нарушения водно-ионного гомеостаза в ЭПС и цитоплазматическом матриксе, с нашей точки зрения является следствием свободно-радикального повреждения мембран клеток.

Таким образом, обработка икры антиоксидантом «Тиофан» в критические фазы эмбрионального развития обеспечивает рациональное использование ресурсов трофического материала желтка в эмбриональный период и способствует раннему формированию оптимальной формы тела в период перехода к самостоятельному передвижению в акватории. Полученные у личинок опытной группы преимущества в отношении формирования органов пищеварительной системы включая провизорное пищеварение у эмбрионов и дефинитивное пищеварение у личинок при переходе на автономное питание, позволяет молоди рыб успешно адаптироваться к действию абиотических факторов окружающей среды.

### 3.3. Влияние стрессовой нагрузки на структурно-функциональную характеристику органов пищеварительной системы сеголеток карпа, полученных в аквакультуре с использованием антиоксиданта «Тиофан» в критические фазы эмбрионального развития

Результаты гистологических исследований показали, что структура печени, поджелудочной железы и кишечника сеголетков карпа опытной и контрольной группы до транспортировки имела типичное для нормы гистологическое строение. Признаков различий в строении тканей данных органов у рыб контрольной и опытной групп нами не обнаружено.

Морфологический анализ гепатопанкреаса и всех отделов кишечника сеголетков карпа после транспортной нагрузки позволил выявить выраженные структурно-функциональные различия между исследуемыми образцами рыб контрольной и опытной групп. В печени рыб контрольной группы в интермедиарной и центрлобулярной зоне зарегистрированы признаки гидропической дистрофии и фокального колликационного некроза. В соответствии с классическими представлениями патоморфологии данный вид сублетального и летального повреждения гепатоцитов связан с нарушением структуры и функции плазматической мембраны и мембранных органелл клетки. Известно, что повреждение белков мембран, в том числе Na/K насоса приводит к избыточному транспорту воды в клетку, ее повышенной гидратации и гибели.

Доказательством нарушения работы Na/K насоса являются данные атомно-эмиссионного анализа (рис. 2).

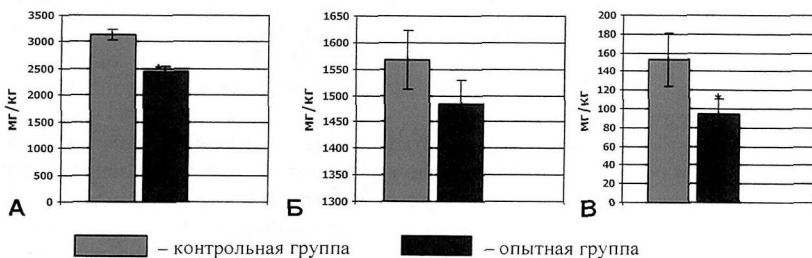


Рис. 2. Элементный состав тканей печени сеголетков карпа.

А – содержание ионов калия; Б – содержание ионов натрия; В – содержание ионов кальция.

Примечание: \* $p \leq 0,05$  (достоверные различия с контрольной группой)

Результаты исследования показали, что количественное содержание натрия в гепатоцитах печени рыб контрольной и опытной групп не имеют достоверных различий. Соотношение натрия и калия является наиболее информативным показателем нарушения функции Na/K насоса. В образцах

печени рыб контрольной группы этот показатель на 28 % меньше, чем в опытной. В исследуемых образцах печени рыб опытной группы зарегистрированы лишь признаки слабо выраженной гидропической дистрофии, которая является до известной степени обратимым повреждением.

При анализе содержания кальция в образцах печени рыб контрольной группы установлено его превышение в 1,6 раза по сравнению с аналогичными образцами ткани рыб опытной группы. Можно полагать, что свободнорадикальное повреждение плазматической мембраны гепатоцитов приводит к нарушению не только Na/K транспортера, но кальциевых каналов. Как известно, избыточное содержание данного катиона в клетке активизирует работу многочисленных Ca-зависимых протеолитических систем клетки, тем самым усиливая ее повреждение.

Морфологический анализ образцов клеток экзокринной части поджелудочной железы рыб контрольной и опытной групп позволил выявить схожий с клетками печени механизм их повреждения. Результаты исследования гистологических препаратов показали, что по сравнению с опытной группой нарушения структурной организации железы у рыб контрольной группы имеют более выраженный характер.

В образцах рыб контрольной группы ациноциты теряют характерную полярность строения. Среди клеток встречались экзокриноциты с признаками деструкции и клеточный детрит. В аналогичных образцах рыб опытной группы цитоплазма клеток железы имеет признаки слабо выраженной гидропической дистрофии.

Аналогичный механизм повреждения клеток органов пищеварительной системы отмечен и в отношении переднего, среднего и дистального отделов кишечника. В образцах переднего отдела кишечника рыб контрольной группы обнаружены признаки глубокого нарушения водно-ионного гомеостаза. Клетки эпителия теряли характерную полярность строения, цитоплазма клеток в области базолатеральной поверхности заполнена водой.

В структуре эпителия слизистой оболочки отмечены многочисленные клетки с признаками плазморексиса и клеточный детрит. Собственная пластинка слизистой имеет признаки ярко выраженного отека (табл. 4). В просвете кишечника и на поверхности эпителиоцитов заметно высокое содержание желчных пигментов, что можно объяснить недостаточной активностью пищеварительных ферментов и нарушением регуляции липидного обмена.

В аналогичных образцах кишечника рыб опытной группы эпителий не имел выраженных признаков повреждения. В собственной пластинке идентифицированы расширенные капилляры, содержащие плазму и клетки крови. По совокупности выявленных морфологических изменений в структурно-функциональной организации кишечника рыб опытной и контрольной групп можно заключить, что процессы пищеварения, связанные с деградацией пищи и ее транспортом, у рыб опытной группы более значительны по сравнению с контрольной.

Таблица 4

Морфометрические параметры кишечника сеголеток карпа в условиях транспортной нагрузки

| Показатели, мкм                                  | Передний отдел кишечника |                  | Средний отдел кишечника |                  | Задний отдел кишечника |                    |
|--|--------------------------|------------------|-------------------------|------------------|------------------------|--------------------|
|  | контроль                 | опыт             | контроль                | опыт             | контроль               | опыт               |
| 1.Высота стенки кишечной трубки                  | 410,56±<br>18,34         | 434,48±<br>20,74 | 279,76±<br>9,33         | 258,79±<br>8,10  | 163,55±<br>28,4        | 326,83±<br>48,52** |
| 2.Высота ворсинки кишечника                      | 381,37±<br>17,05         | 398,93±<br>15,12 | 241,06±<br>11,21        | 208,73±<br>7,09* | 138,42±<br>19,17       | 222,24±<br>25,33*  |
| 3.Высота эпителиоцитов                           | 18,06±<br>1,12           | 24,82±<br>1,33** | 9,87±<br>1,03           | 13,73±<br>1,12*  | 13,27±<br>2,05         | 22,27±<br>2,40*    |
| 4.Ширина собственной пластинки ворсины кишечника | 52,81±<br>3,72           | 27,21±<br>2,06*  | 27,6±<br>3,12           | 16,19±<br>2,94*  | 20,67±<br>1,21         | 16,75±<br>1,09*    |
| 5.Кол-во ворсинок на ед. площади                 | 4,5±<br>0,51             | 4,5±<br>0,48     | 6,5±<br>0,7             | 6,5±<br>0,65     | 6,0±<br>0,65           | 5,0±<br>0,32       |

Статистически достоверные различия между показателями контрольной и опытной групп (\* $p \leq 0,05$ , \*\* $p \leq 0,01$ ).

Связывая развитие гидропической дистрофии гепатоцитов и нарушение структуры собственной пластинки слизистой оболочки кишечника с механизмами свободнорадикального повреждения мембранных органелл и межклеточного вещества соединительной ткани при транспортном стрессе в данном разделе работы были исследованы показатели липопероксидации и активность ферментов антиоксидантной защиты в гомогенатах кишечника и гепатопанкресе рыб (рис.3).

Результаты исследования показали, что по интегральным показателям окислительного стресса в тканях переднего, среднего и заднего отделов кишечника, а также гепатопанкреса рыб контрольной группы происходит увеличение продуктов СПОЛ и депрессия системы антиоксидантной защиты. Полученные результаты позволяют считать, что транспортный стресс и его негативное влияние является одним из факторов, который через механизм свободнорадикального перекисного окисления липидов вызывает повреждение органов пищеварительной системы.

Обобщая результаты проведенных научных исследований можно вполне обоснованно заключить, что по совокупности примененных подходов

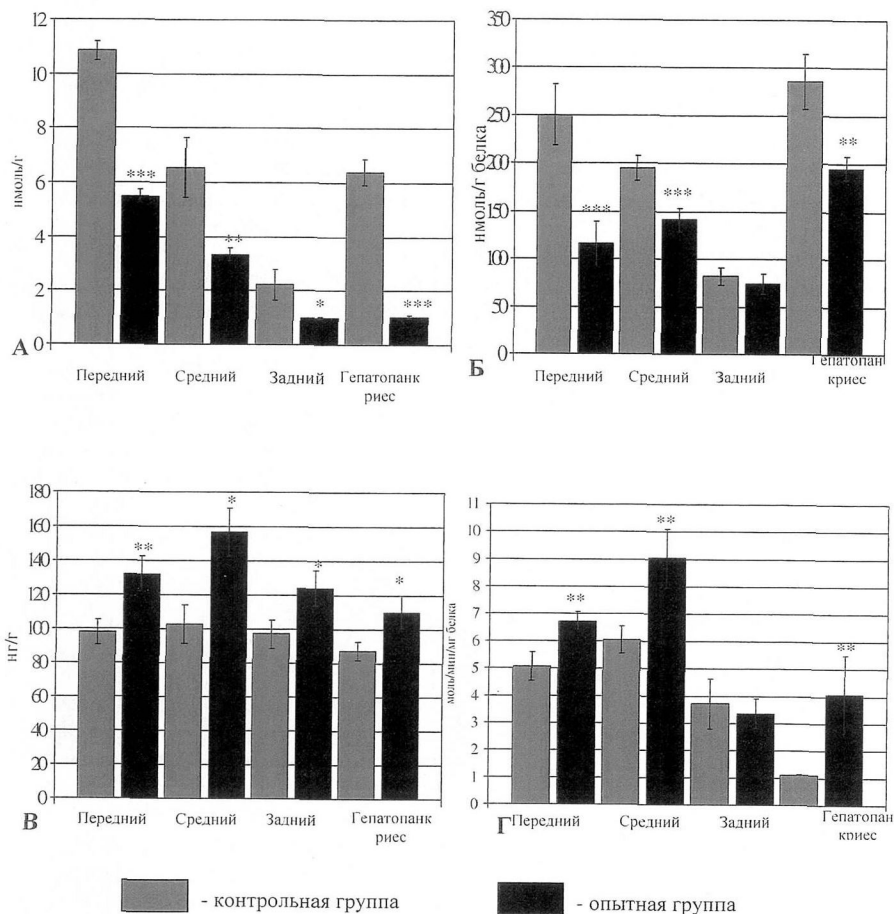


Рис. 3. Содержание продуктов свободнорадикального окисления и показатели активности системы антиоксидантной защиты в гомогенатах тканей разных отделов кишечника и гепатопанкреаса рыб: А – содержание диеновых конъюгатов; Б – содержание малонового диальдегида; В – активность супероксиддисмутазы; Г – активность каталазы. Примечание: достоверное различие опытной группы относительно контрольной группы ( $p \leq 0,05$ ;  $p \leq 0,01$ ;  $p \leq 0,001$ )

для доставки в критические фазы развития в икру карпа полифункционального антиоксиданта нового поколения «Тиофан» нами разработана новая технология свободнорадикальной защиты рыб при их разведении в аквакультуре. Использование технологии антирадикальной защиты рыб в критические фазы эмбрионального развития позволяет сеголеткам карпа получить преимущества в функционировании системы антиоксидантной защиты и сохранять устойчивость тканей пищеварительной системы к воздействию транспортного стресса в течение первых 5 месяцев жизни.

### **ВЫВОДЫ**

1. Использование разработанной технологии антирадикальной защиты рыб в критические фазы эмбрионального развития статистически достоверно снижает показатели окислительного стресса у эмбрионов и личинок зеркального карпа по сравнению с традиционной технологией аквакультуры.

2. Особенностью морфогенеза провизорной пищеварительной системы карпа в период бластулогенеза и гастрюляции при традиционной технологии аквакультуры является чрезмерное повышение активности лизосом во внезародышевом компоненте яйца и усиленная резорбция трофического материала светлых желточных гранул; в период органогенеза усиленная резорбция трофического материала светлых и темных желточных гранул обеспечивается за счет активности лизосом и клеток перибласта; в личиночном периоде свободнорадикальное повреждение мембранных органелл энтероцитов нарушает процессы внутриклеточного и полостного пищеварения.

3. При использовании разработанной технологии антирадикальной защиты рыб в критические фазы эмбрионального развития особенностью морфогенеза пищеварительной системы карпа является сопряжение активности лизосомальных и нелизосомальных протеолитических систем в механизме провизорного пищеварения в период бластулогенеза, гастрюляции и органогенеза; в личиночный период развития устойчивость мембранных органелл энтероцитов к свободнорадикальному повреждению оптимизирует процессы полосного пищеварения в отношении переваривания фитопланктона на 46, 15%, а зоопланктона более, чем в 5 раз, по сравнению с контролем.

4. Использование антиоксиданта «Тиофан» в критические фазы эмбрионального развития снижает уровень сублетальных и летальных повреждений клеток кишечника и гепатопанкреаса сеголеток карпа в условиях транспортного стресса по сравнению с контролем.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

1. Отсутствие у антиоксиданта «Тиофан» цитотоксических свойств, а также его высокая антирадикальная и противопероксидная эффективность, позволяют рекомендовать данный антиоксидант в качестве антирадикальной защиты рыб в критические фазы эмбрионального развития в условиях аквакультуры.

2. Для снижения уровня сублетальных и летальных повреждений клеток органов пищеварительной системы при транспортном стрессе рекомендуется использование антиоксиданта «Тиофан» в качестве антирадикальной защиты рыб в период эмбрионального развития.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

### **В журналах, рекомендованных ВАК РФ:**

1. **Обогрелова М. А.** Влияние транспортного стресса на морфофункциональную характеристику органов пищеварительной системы зеркального карпа / М. А. Обогрелова, А. В. Сахаров, А. А. Макеев, А. Е. Просенко, Н. А. Петренко // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – Новосибирск, 2012. – № 1. – С. 91–97.

2. Кеберлайн О. В. Влияние различных технологий обесклеивания икры на интенсивность зародышевого развития зеркального карпа в условиях промышленной технологии разведения / 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.

3. 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 аграрного университета. – Новосибирск, 2010. – № 3. – С. 85–88.

### **В других изданиях:**

4. **Обогрелова М. А.** Влияние антиоксиданта тиофана на интенсивность зародышевого развития зеркального карпа / М. А. Обогрелова // Студент и научно-технический прогресс: матер. XLVIII междунар. науч. студ. конф. – Новосибирск, 2010. – С. 41.

5. **Обогрелова М. А.** Влияние активированных кислородных метаболитов на формирование пищеварительной системы зеркального карпа / М. А. Обогрелова // Экология России и сопредельных территорий: матер. XV междунар. экологической студенческой конф. – Новосибирск, 2010. – С. 91–92.

6. **Обогрелова М. А.** Влияние антиоксиданта тиофана на формирование и развитие органов пищеварительной системы карпа в раннем периоде онтогенеза / М. А. Обогрелова // Биоантиоксидант: матер. VIII междунар. конф. – Москва, 2010. – С. 341–343.

7. **Обогрелова М. А.** Влияние антиоксиданта тиофана на формирование органов пищеварительной системы карпа в период эмбрионально-личиночного развития / М. А. Обогрелова // Проблемы биологической науки и образования в педагогических вузах: матер. VI Всерос. науч.-практ. конф. – Новосибирск, 2010. – С. 93–99.

---

Подписано в печать 11.01.13. Формат бумаги 60×84/16.  
Печать RISO. Уч.-изд.л. 1,5. Усл. п.л. 1,4. Тираж 120 экз.  
Заказ № 2.

---

Педуниверситет, 630126, Новосибирск, Виллойская, 28