

УДК 597. 442: 577.1

И. Э. Степанова

СОДЕРЖАНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ОРГАНАХ РЫБ СЕМЕЙСТВА ACIPENSERIDAE

Представлены результаты исследования содержания аскорбиновой кислоты в печени, почках, гонадах, селезенке и сыворотке крови русского осетра, белуги, севрюги и стерляди в зависимости от пола, вида, сезона и местообитания. Сезонная динамика концентрации аскорбата в исследованных органах осетровых рыб заключается в тенденции ее повышения в летний и снижения в зимний периоды. Отмечено, что ее содержание обладает органоспецифичностью, связанной с функциями соответствующих органов.

Ключевые слова: осетровые, аскорбиновая кислота, белуга, севрюга, стерлядь, русский осетр.

Аскорбиновая кислота (АК) — один из наиболее необходимых для нормального функционирования организма макровитаминов. Благодаря способности к необратимому и обратимому окислению, она принимает участие во многих биохимических процессах, таких, как свертывание крови, синтез белков, в частности коллагена [3], и стероидов, используется в печени при детоксикации посредством индукции микросомальных гидроксилирующих ферментов [12]. Представители некоторых семейств рыб могут обеспечивать себя АК посредством ее микробиального синтеза в кишечнике и ферментативного — в микросомах печени [10, 11]. Однако, большинство видов лишено такой способности и единственным источником АК для них является пища. При недостатке этого витамина и отсутствии метаболических путей для его биосинтеза развиваются специфические признаки скорбута (цинги), в частности структурные деформации: лордоз, сколиоз, гиперплазия хрящей, искривления жаберных крышек и плавников. Для рыб приavitaminозе также характерны многочисленные точечные кровоизлияния [14]. Неспецифическими признаками являются анорексия и летаргия [15], асцит и геморрагическая экзофтальмия, отставание в росте, атрофия спинного мозга [14], высокая смертность [1]. Различные наблюдаемые эффекты цинги — результат ингибирования целого ряда метаболических реакций, для которых АК является кофактором. Поражения кожи и кровоизлияния, возникающие вследствие ломкости сосудов, связаны с тем, что коллаген, синтезированный в отсутствие АК, оказывается недогидроксилированным, имеет пониженную температуру плавления и, следовательно, не может образовывать нормальные по структуре волокна [5]. Большинство исследователей

© И. Э. Степанова, 2017

рассматривают содержание АК в контексте условий содержания рыб его недостатком в пище [14] и физиологическим стрессом [19]. Сведения о распределении АК в органах представителей семейства *Acipenseridae* весьма фрагментарны [18]. Мало данных и по влиянию различных факторов на ее содержание в теле осетровых рыб [16, 17], хотя этот показатель отражает общее состояние организма, а также степень загрязнения воды. Известно, что при высоком содержании нитритов, токсафена и других отравляющих веществ ее количество в тканях рыб может значительно снижаться [17]. Витамин С может быть важным индикатором физиологического состояния не только отдельной особи, но и популяции в целом.

Целью данной работы было исследование распределения АК в организме осетровых рыб в зависимости от вида, пола, сезона и места обитания.

Материал и методика исследований. Объектами изучения были белуга (*Huso huso* L.), русский осетр (*Acipenser gueldenstaedti* Brandt), севрюга (*Acipenserstellatus* Pall), стерлядь (*Acipenser ruthenus* L.). Рыбы были отловлены в нижнем бьефе Волгоградского гидроузла (ежемесячно 26—38 экз.), а также разово в дельте Волги в июне (северо-каспийская популяция, 12 экз.) и Днепровском лимане в мае — начале июня (азово-черноморская популяция, 10 экз.) и доставлены на рыбопромышленные заводы (в частности, Ново-Каховский, Херсонская область), где у них были взяты гонады для оплодотворения и образцы других тканей. Навески массой 1,5—2,0 г были помещены в пластмассовые пробирки и заморожены. Все экземпляры были половозрелыми. Вес русского осетра варьировал в пределах 10,5—37,6 кг, белуги — 25—318, стерляди — 0,6—1,4 кг, севрюги — 6,5—11,0 кг.

Содержание АК в печени, почках, гонадах, селезенке и сыворотке крови определяли дипиридиловым методом после предварительной гомогенизации и последующего осаждения белков трихлоруксусной кислотой и центрифугированием при 2000 об/мин. Методика основана на способности АК восстанавливать трехвалентное железо в двухвалентное, образующее с α,α' -дипиридилом комплексное соединение розового цвета [2] с максимумом поглощения 525 нм. Измерения экстинкции проводили на спектрофотометре DU 8B Beckman.

Результаты исследований и их обсуждение

Аскорбиновая кислота в органах разных видов осетровых. У всех осетровых, отловленных в феврале в нижнем бьефе Волгоградского гидроузла, максимальное количество АК содержалось в печени, минимальное — в сыворотке крови (табл. 1). Низкий уровень АК в сыворотке крови как у хрящевых, так и костистых рыб был установлен ранее [11], максимальное количество отмечено в разных органах, например печени и почках [9, 14], мозге и гонадах [18].

Неравномерность распределения АК по органам напрямую связана с их функциями. Высокое содержание в печени может быть обусловлено происходящими в ней индукцией и репрессией ферментных систем, поскольку

1. Содержание аскорбиновой кислоты в органах рыб семейства Acipenseridae, мг/100 г ткани (февраль, Волгоград)

Рыбы	Органы				
	печень	почки	селезенка	гонады	сыворотка крови
Белуга	69,7 ± 9,8	31,6 ± 2,6	5,51 ± 0,96	14,5 ± 3,0	1,46 ± 0,32
Севрюга	63,6 ± 12,1	30,3 ± 4,6	13,6 ± 3,70	13,6 ± 3,7	1,40 ± 0,28
Осетр	39,1 ± 5,1	26,6 ± 3,8	8,51 ± 3,14	11,3 ± 1,7	1,58 ± 0,43
Стерлядь	54,9 ± 8,0	24,6 ± 4,6	9,32 ± 1,58	13,1 ± 2,7	0,95 ± 0,23

АК является коферментом и принимает участие в процессах гидроксилирования и оксигенирования многих веществ. Для радужной форели *Salmo gairdneri* сделаны попытки использовать концентрацию АК в разных органах в качестве индекса его статуса (такого количество, при котором отсутствуют признаки авитаминоза) во всем организме, например в почках [14] или печени [15]. Для осетровых, по нашему мнению, наиболее объективным является содержание АК в печени, поскольку именно в ней преимущественно происходят процессы, связанные с использованием витамина С, в том числе и детоксикация организма. Исходя из того, что отловленные рыбы не имели специфических признаков скорбута, можно считать, что содержание АК в печени больше 40 мг/100 г ткани является для осетровых рыб нормальным. В других исследованных органах она играет не столь значительную роль, поэтому и запасы ее меньше. В гонадах АК принимает участие в синтезе стероидных гормонов [10], в почках, как и в печени, только в менее значительных количествах, происходит синтез глюкозы и АК. Селезенка у рыб — основное место синтеза гемоглобина, в процессе которого активное участие принимает АК, кровь является не только пассивным переносчиком витамина С, в ней также синтезируется некоторое количество гемоглобина. Отмеченная органоспецифичность может отражать не только физиологические особенности, но и изменения в метаболических процессах, происходящих под влиянием экологических факторов.

При сравнении концентрации АК у рыб, отловленных в нижнем бьефе Волгоградского гидроузла, установлено, что наибольшее ее количество содержится в печени белуги и севрюги, меньшее — в печени стерляди и русского осетра, в почках различия недостоверны, а в гонадах оно фактически одинаковое (см. табл. 1). В селезенке севрюги содержание АК почти вдвое выше, чем белуги, а осетра и стерляди оно различается мало. В сыворотке крови уровень АК у белуги, севрюги и осетра был сходным и только у стерляди он несколько ниже. В целом, различия в концентрации АК в организме рыб дают веские основания предположить, что она видоспецифична. Накопление большого количества этого витамина в органах белуги и севрюги может быть объяснено их высокой плодовитостью, продолжительностью репродуктивных миграций и связанными с ними значительными физическими нагрузками. Кроме того, в рационе этих видов преобладают рыбы [7].

Сезонная динамика уровня аскорбиновой кислоты, как и других биохимических показателей организма рыб, является одним из необходимых условий для их адаптации к условиям окружающей среды. Сезонные колебания концентрации АК в органах рыб весьма разнообразны, однако имеется определенная тенденция к ее снижению зимой [18], летом содержание аскорбиновой кислоты, как у пресноводных, так и у морских рыб максимально [6].

В печени самок русского осетра в зимний и весенний периоды (с февраля по апрель) содержалось меньше АК, чем в летний, осенний и даже начале зимнего (табл. 2). Усиление метаболических процессов, связанное с повышением температуры окружающей среды, в июне приводило к двукратному возрастанию этого показателя в печени. Относительно высокий уровень удерживался в летние и осенние месяцы, а к декабрю становился максимальным. У самцов минимум содержания АК в этом органе отмечен в марте, а максимум приходился на июль, в октябре и декабре ее содержание также сохранялось на достаточно высоком уровне.

В почках самок, как и в печени, минимальная концентрация АК приурочена к зимнему периоду (см. табл. 2). Летом она достигала максимальных значений и сохранялась практически на этом уровне осенью и начале зимы. В почках самцов концентрация АК в феврале и марте также была низкой. Она возрастала с апреля по июнь, достигая максимума в июле, а в течение следующих месяцев несколько снижалась. Увеличение в декабре носило недостоверный характер.

В селезенке самок русского осетра содержание АК сильно варьировало в течение всего периода исследования, с минимумом в апреле и максимумом в октябре. У самцов, в отличие от самок, ее минимальный уровень приходился на март, а максимальный — на июль. В гонадах самок концентрация АК изменялась не столь значительно, как в других органах. В период с февраля по июль она колебалась в пределах 23—30 мг/100 г ткани, к декабрю возросла до 46 мг/100 г ткани.

Во все месяцы, за исключением июля, в селезенке у самцов ее содержание было в два и более раз ниже, чем у самок. Аналогичная картина характерна и для представителей семейства Cyprinidae, в частности плотвы *Rutilus rutilus* и карася *Carassius carassius* [6]. В сыворотке крови максимальный уровень витамина С у самок и самцов осетра был отмечен в декабре, при этом он был выше, чем в другие месяцы, примерно в 2,0—2,5 раза (см. табл. 2).

Максимальное содержание АК в печени белуги отмечено в октябре, а минимальное — в апреле, при этом оно значительно варьировало. В почках и гонадах максимум приходился на июнь, а минимум, как и в печени, — на апрель. Высокое содержание в селезенке приурочено к летнему и осеннему сезонам, тогда как весной оно было на достаточно низком уровне, особенно в апреле (табл. 3). В сыворотке крови динамика содержания АК заметно отличалась от динамики в других органах — высокая концентрация отмечена

2. Сезонная динамика содержания аскорбиновой кислоты в органах русского осетра, мг/100 г ткани

Месяцы	Печень	Почки	Гонады	Селезенка	Сыворотка крови
Самки					
Февраль	46,7 ± 3,2	13,8 ± 1,9	27,0 ± 5,9	6,1 ± 1,3	1,1 ± 0,22
Март	39,3 ± 7,1	14,9 ± 1,4	23,1 ± 4,5	6,6 ± 1,3	1,2 ± 0,17
Апрель	44,6 ± 9,5	20,8 ± 5,7	25,5 ± 5,9	5,6 ± 1,7	1,3 ± 0,62
Май/Июнь	112,5 ± 15,8	36,1 ± 4,4	30,8 ± 4,3	12,0 ± 1,9	0,9 ± 0,13
Июль	116,1 ± 5,1	44,8 ± 4,67	30,9 ± 1,9	18,8 ± 2,4	1,4 ± 0,23
Октябрь	105,2 ± 29,0	46,1 ± 3,8	—	27,8 ± 3,5	1,6 ± 0,43
Декабрь	143,0 ± 22,4	47,3 ± 7,8	46,9 ± 8,2	21,1 ± 5,8	3,3 ± 0,43
Самцы					
Февраль	38,9 ± 4,7	13,7 ± 2,8	11,7 ± 1,7	6,7 ± 0,8	1,2 ± 0,2
Март	30,0 ± 3,3	12,8 ± 3,6	18,5 ± 1,9	5,4 ± 0,9	0,9 ± 0,1
Апрель	56,7 ± 7,6	25,2 ± 2,8	13,0 ± 2,9	9,5 ± 2,1	1,1 ± 0,3
Май/Июнь	98,5 ± 14,8	37,8 ± 15,9	19,9 ± 6,4	19,0 ± 3,7	1,0 ± 0,2
Июль	127,3 ± 28,8	64,6 ± 15,3	31,1 6,5	20,5 ± 5,8	2,0 ± 0,5
Октябрь	107,6 ± 21,1	39,6 ± 9,6	—	16,4 ± 3,7	1,7 ± 0,3
Декабрь	110,8 ± 42,5	42,6 ± 4,6	24,6 ± 5,1	13,2 ± 1,9	3,9 ± 0,7

в осенне-зимние месяцы с максимумом в декабре, а минимум приходился на апрель, как и в других органах.

В печени стерляди, отловленной в нижнем бьефе Волгоградского гидроузла, максимальное содержание АК отмечено в декабре, к началу весны интенсивное расходование привело к ее снижению в 2,8 раза (табл. 4). В гонадах и сыворотке крови оно также резко снижалось за зимний период. В почках сезонные различия были не столь контрастными. В селезенке минимум приходился на апрель, а не на март, как в других органах.

Таким образом, во многих жизненно важных органах трех исследованных представителей семейства осетровых — русского осетра, белуги и стерляди существует сезонная изменчивость концентрации АК, максимумы приурочены к летнему и осеннему периодам, а минимумы — к весеннему. Такой характер сезонной динамики определяется особенностями биологии, поведения, образа жизни, а также факторами внешней среды. Во-первых, во время нерестовой миграции осетра и белуги в реки и полового созревания происходят глубокие морфологические и биохимические перестройки в их органах. Важнейшим моментом является переход из соленой воды в пресную и связанная с этим адаптация к резкой смене ионной силы и ионного

3. Сезонная динамика содержания аскорбиновой кислоты в органах белуги, мг/100 г ткани

Месяцы	Органы				
	Печень	Почки	Гонады	Селезенка	Сыворотка крови
Февраль	70,4 ± 7,1	21,6 ± 2,0	29,2 ± 5,8	6,52 ± 1,50	1,64 ± 0,29
Март	55,6 ± 10,0	22,9 ± 7,9	19,4 ± 4,3	6,40 ± 1,04	0,59 ± 0,11
Апрель	45,8 ± 4,8	16,3 ± 2,1	15,1 ± 1,9	7,57 ± 1,13	0,68 ± 0,08
Июнь	89,2 ± 8,9	55,5 ± 4,6	35,3 ± 6,2	12,5 ± 1,7	0,82 ± 0,06
Октябрь	103,0 ± 11,0	45,1 ± 4,6	—	14,2 ± 2,9	2,81 ± 0,59
Декабрь	90,1 ± 6,3	47,6 ± 5,2	23,9 ± 3,8	10,6 ± 1,7	3,78 ± 1,23

4. Концентрация аскорбиновой кислоты в органах стерляди нижневолжской популяции, мг/100 г ткани

Месяц	Орган				
	Печень	Почки	Гонады	Селезенка	Сыворотка
Февраль	46,7 ± 3,8	17,4 ± 3,7	11,1 ± 1,4	12,5 ± 2,6	1,01 ± 0,09
Март	40,2 ± 6,2	14,5 ± 2,5	12,6 ± 1,3	9,63 ± 2,61	0,76 ± 0,02
Апрель	44,4 ± 3,1	18,9 ± 2,5	13,6 ± 1,7	8,64 ± 1,35	1,13 ± 0,17
Декабрь	115,0 ± 7,0	36,6 ± 7,0	31,6 ± 7,1	15,2 ± 2,0	4,93 ± 1,60

состава внешней и внутренней среды. Во-вторых, в речной период жизни осетров и белуга проходят стадию вегетативного покоя, прекращают питание [4], поэтому дальнейшее энергообеспечение и биосинтетические процессы осуществляются только за счет катаболизма биополимеров. Стерлядь также прекращает питаться в холодное время года. В-третьих, сезонные колебания происходят под воздействием факторов внешней среды, которые непосредственным образом сказываются на физиологических процессах и тем самым на содержании жизненно важных компонентов в органах, в том числе и регулирующих многие процессы обмена [5]. Эти факторы настолько разнообразны, что практически невозможно выделить роль каждого из них по отдельности. Несомненно, определяющую роль имеет температура воды. В зимний период при низких температурах интенсивность биохимических процессов снижается, что связано с изменением в ферментных системах: замедлением темпов синтеза ферментов, образованием сезонных изоферментов, а также ослаблением и без того слабых связей при низких температурах [7, 8]. Аскорбиновая кислота, с одной стороны, входит в состав некоторых ферментов (гидроксилаз, оксидаз и декарбоксилаз), а с другой — сама синтезируется при помощи ферментов в печени. Совокупность выше перечисленных факторов и определяет ее низкое содержание в зимний и весенний периоды. Довольно высокое содержание, и даже в некоторых случаях максимум осенью можно объяснить тем, что процесс приспособления к смене температур происходит ступенчато и в это время, скорее всего, про-

5. Содержание аскорбиновой кислоты в органах русского осетра азово-черноморской и северо-каспийской популяций, мг/100 г ткани

Места отлова	Печень	Почки	Гонады	Селезенка	Сыворотка крови
Волгоград	109,0 ± 11,8	39,9 ± 5,39	21,5 ± 2,82	11,5 ± 5,16	0,71 ± 0,23
Астрахань	119,0 ± 18,7	46,8 ± 16,1	40,7 ± 7,1	16,1 ± 5,01	0,94 ± 0,94
Херсон	106,0 ± 14,3	38,7 ± 4,24	34,8 ± 2,82	14,8 ± 6,95	1,22 ± 0,39

текает фаза адаптации, сопровождающаяся стимулированием некоторых биохимических процессов, в том числе синтеза АК (фаза «подготовки к зиме») [7, 8].

Содержание аскорбиновой кислоты в различных популяциях исследовали на примере русского осетра. Содержание АК в печени и почках осетров, отловленных под Волгоградом и в Днепровском лимане, практически не различалось (табл. 5). Различия показателя в гонадах и селезенке особей из этих местообитаний были достоверны. Содержание АК в органах особей, отловленных в дельте Волги, было несколько выше, чем у особей, отловленных под Волгоградом, что может быть связано с более поздним сроком отлова в дельте (начало июля), а, как показано выше, этот показатель возрастает в летний период. Следовательно, местообитание не оказывало значительного влияния на концентрацию витамина С.

Заключение

Содержание АК в организме осетровых не постоянно и зависит в различной степени от многих факторов: органа, пола, вида рыбы, сезона и места отлова. Органоспецифичность содержания АК у осетровых рыб связана с особенностями их функций, по этому показателю исследованные органы можно расположить в следующем порядке: печень > почки > гонады > селезенка > сыворотка крови. Самки и самцы русского осетра не имеют достоверных различий по этому показателю во всех исследованных органах, кроме гонад, где у самок оно несколько выше. Содержание АК у белуги и севрюги выше, чем у русского осетра и стерляди. Изменения концентрации в органах осетровых носят сезонный характер: она наиболее высока летом и осенью, весной резко снижается. Отсутствие специфических признаков скорбута у всех исследованных особей указывает на то, что отмеченные вариации концентрации АК в исследованных органах осетровых рыб находятся в пределах физиологической нормы.

**

У статті представлено результати дослідження вмісту аскорбінової кислоти в органах риб родини осетрових. Встановлено її вміст у печінці, нирках, селезінці, гонадах і плазмі крові, а також вплив на нього виду, статі, сезону та місця відлову. Сезонна динаміка вмісту аскорбінової кислоти має тенденцію до зростання у літній період та зниження у зимовий. Вміст аскорбінової кислоти органоспецифічний, що пов'язано особливостями функціонування відповідних органів.

**

The paper presents results of investigations of the ascorbic acid status in fishes of fam. Acipenseridae. Ascorbic acid concentrations in liver, kidneys, gonads, spleen and blood serum of Russian sturgeon, beluga sturgeon, stellate sturgeon and sterlet and effects of species, sex, season and habitat on it were analyzed. Seasonal dynamics of ascorbic acid concentration in organs showed tendency of increase in summer and decrease in winter. Ascorbic acid concentration demonstrated organospecificity associated with organs' functions.

**

1. Каницьев А.Н. Гамыгин Е.А. Первый поливитаминный премикс отечественного производства для радужной форели // Рыб. хоз-во. — 1976. — № 11. — С. 12—14.
2. Кондрахин И.П., Курилов Н.В., Малахов А.Г. и др. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии. — М.: Агропромиздат, 1984. — 288 с.
3. Майер Ф.Л., Мерле П.М. Коллаген и гидроксипролин в токсикологических исследованиях на рыбах // Влияние загрязняющих веществ на гидробионтов и экосистемы водоемов. — Л.: Наука, 1979. — С. 310—319.
4. Никольский Г. В. Частная ихтиология. — М.: Высш. шк., 1971. — 469 с.
5. Страйер Л. Биохимия. — М.: Мир, 1984. — Т. 1. — 232 с.
6. Фомін С.М., Романюк Н. М., Хвойницька М.А. Про вміст аскорбінової кислоти в різних тканинах риб // Укр. біохем. журн. — 1937. — № 1. — С. 365—370.
7. Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. — М.: Мир, 1977. — 398 с.
8. Шульман Г.Е. Физиолого-биохимические особенности годовых циклов рыб. — М.: Пищ. пром-сть, 1972. — 368 с.
9. Dabrowski K. L-ascorbic — content in silver breams organs // Pol. Arch. Hydrobiol. — 1977. — Vol. 24, N 4. — P. 569—573.
10. Dabrowski K., Ciereszko F. Ascorbic acid protects against male infertility in teleost fish // Experientia. — 1996. — Vol. 52, N 2. — P. 97—100.
11. Dabrowski K. Primitive Actinopterigian fish can synthesize ascorbic acid // Ibid. — 1994. — Vol. 50, N 2. — P. 745—748.
12. Gy P., Saroglia M., Jeney Z. Effects of vitamin C on collagen status of sturgeon hybrid // 3rd Int. Symp. Sturgeon: Booklet abstr. — Piacenza, 1997. — P. 34.
13. Halver J.E., Smith K.K. Utilization of ascorbic acid in fish // Ann. New York Acad. Sci. — 1975. — Vol. 258. — P. 81—101.
14. Hilton J.W., Cho C.G., Slinger J.J. Effect of graded levels of supplement ascorbic acid in practical diets fed to rainbow trout // J. Fish. Res. Board. Can. — 1978. — Vol. 35, N 4. — P. 431—436.
15. Moreau R., Kaushik S.J., Dabrowski K. Ascorbic acid status as affected by dietary treatment in Siberian sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt): tissue concentration, mobilization and L-gulonolactone oxidase activity // Fish. Physiol. Biochem. — 1996. — Vol. 15. — P. 431—438.
16. Moreau R., Dabrowski K. Vit. C — Vit. E interaction in juvenile lake sturgeon // 3rd Int. Symp. Sturgeon: Booklet abstr. — Piacenza, 1997. — P. 267—268.

17. Saroglia M. Nitrite induced changes in ascorbat status of sturgeon hybride fed diets with different form and doses of vitamin C // 3rd Int. Symp. Sturgeon. Booklet Abstr. — Piacenza, 1997. — P. 325—326.
18. Siddiqui M. Seasonal variation in A.A. content of different tissues of *O. punctatus* // Ind. J. Exp. Biol. — 1988. — Vol. 5, N 1. — P. 54—55.
19. Wedemeier G. Stress induced ascorbic acid depletion and cortisol production in two salmonide fish // Comp. Biochem. Physiol. — 1969. — Vol. 29, N 3. — P. 1247—1251.

Институт биологии внутренних вод РАН,
Борок, РФ

Поступила 02.06.17