УДК 615.32:616-092.18:574

И.И. Харченко[1], М.М. Маринюк[1] , Г.М. Ткаченко[2], Л.И. Буюн[1], П. Пажонтка-Липинский[2], М. Виташек[2], З. Осадовский[2]

[1]Национальный ботанический сад им. Н.Н. Гришко, Национальная академия наук Украины, 01014, Украина, г. Киев, ул. Тимирязевская, 1

[2]Институт биологии и охраны окружающей среды, Поморская академия в Слупске, 76-200, Польша, г. Слупск, ул. Арцишевского, 22б

ОБЩАЯ АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ (ONCORHYNCHUS MYKISS WALBAUM) В ИССЛЕДОВАНИЯХ IN VITRO С ЭКСТРАКТАМИ ИЗ ЛИСТЬЕВ РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ КАМЕЛИИ ЯПОНСКОЙ (CAMELLIA JAPONICA L.)

Целью этого исследования является оценка влияния экстрактов, полученных из листьев различных сортов Camellia japonica L., на уровень общей антиоксидантной активности в мышечной ткани радужной форели (Oncorhynchus mykiss Walbaum). В исследованиях использовались экстракты листьев сортов камелии японской (Camellia japonica L.) из коллекции отдела тропических и субтропических растений Национального ботанического сада имени Н.Н. Гришко Национальной академии наук Украины: C. japonica 'Kramer's Suprete', C. japonica 'C.M.Wilson', C. japonica 'La Pace', C. japonica 'Mrs. Lyman Clarke', C. japonica cv. 3, C. japonica cv. 15. Свежие листья промывали, взвешивали, измельчали и гомогенизировали в 0,1М фосфатном буфере (пропорция 1 : 19) при комнатной температуре. Мышечная ткань была выделена из рыб после быстрой декапитации. Образцы тканей промывали и гомогенизировали в ледяном 100 мМ Трис-HCl буфере (pH 7,2), используя стеклянный гомогенизатор H500 (POL-EKO). Полученные 10%-е гомогенаты центрифугировали при 3000g в течение 15 мин при 4 °С. После центрифугирования супернатант мышечной ткани рыб использовали для инкубации с экстрактами листьев различных сортов C. japonica (в соотношении 19 : 1) при комнатной температуре. Контрольную группу (мышечную ткань форели) инкубировали с 100 мМ трис-HCl буфером (pH 7,2) (в соотношении 19 : 1). Время инкубации составляло 2 ч, после чего в инкубированном гомогенате изучали интенсивность процессов перекисного окисления липидов. Все ферментативные анализы проводили при 22±0,5 °С с использованием спектрофотометра Specol 11 (Carl Zeiss Jena, Germany) в шести повторностях. Результаты исследований установили достаточно высокий уровень общей АОА в образцах мышечной ткани форели при инкубации с экстрактами из сортов C. japonica 'C.M.Wilson' и C. japonica cv. 3 – увеличение уровня АОА на 41,7 и 44,8 % ($p<0,05$) в сравнении с контрольной группой. Экстракты из листьев C. japonica 'La Pace' и C. japonica 'Kramer's Suprete' при инкубации с мышечной тканью радужной форели не изменяли общей АОА, а экстракты из листьев C. japonica 'Mrs. Lyman Clarke' и C. japonica cv. 15 несущественно снизили уровень общей АОА ($p>0,05$). Полученные нами данные относительно высокой антиоксидантной активности этих сортов дают возможность применять эти препараты при ряде заболеваний у рыб с целью увеличения их адаптационных возможностей. Отмечено положительное действие препаратов камелии при лечении различных патологических состояний организма в связи с большим содержанием веществ с высокой антиоксидантной активностью. Результаты проведенного исследования показывают, что АОА мышечной ткани радужной форели может использоваться в качестве одного из критериев оценки функционального состояния антиоксидантной системы организма и эффективности применения экзогенных антиоксидантов.

Ключевые слова: *радужная форель (Oncorhynchus mykiss), общая антиоксидантная активность, камелия японская.*

Igor Kharchenko[1], Myroslava Maryniuk[1], Halyna Tkachenko[2], Lyudmyla Buyun[1], Paweł Pażontka-Lipiński[2], Marlena Witaszek[2], Zbigniew Osadowski[2]

TOTAL ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE MUSCLE TISSUE OF THE RAINBOW TROUT (ONCORHYNCHUS MYKISS WALBAUM) UNDER INCUBATION WITH EXTRACTS FROM LEAVES OF VARIOUS CULTIVARS OF CAMELLIA JAPONICA L.

The main objective of the present study was to evaluate the effect of extracts derived from the leaves of various Camellia japonica L. cultivars on the level of total antioxidant capacity (TAC) in the muscle tissue of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss Walbaum). In the current investigations the extracts obtained from the leaves of various Camellia japonica L. cultivars (C. japonica 'Kramer's Supreme', C. japonica 'C.M.Wilson', C. japonica 'La Pace', C. japonica 'Mrs. Lyman Clarke', C. japonica cv. 3, C. japonica cv. 15) from the living plant collections grown under glasshouse conditions in the Department of tropical and subtropical plants at M.M. Gryshko National Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kyiv, Ukraine) were used. Freshly collected leaves were washed, weighted, crushed, and homogenized in phosphate buffer 0.1M (in ratio 1:19) at ambient temperature. Muscle tissue was removed from rainbow trout after immediate decapitation. The tissue samples were rinsed and homogenized in ice-cold 100 mM Tris-HCl buffer (pH 7.2) using laboratory glass homogenizer H500 (POL-EKO). Obtained 10% supernatants were subjected to centrifugation at 3000g for 15 min at 4°C. After centrifugation the supernatant of fish muscle tissue was used for incubation with leaf extracts of various C. japonica cultivars (in ratio 19:1) at ambient temperature. The control group (muscle tissue) was incubated with 100 mM Tris-HCl buffer (pH 7.2) (in ratio 19:1). The incubation time was 2 hrs, after that the intensity of total antioxidant capacity was evaluated in incubated homogenate. All enzymatic analyses were conducted at 22±0.5°C using spectrophotometer Specol 11 (Carl Zeiss Jena, Germany) with 6 replicates. The results of investigation revealed quite high level of TAC in samples of muscle tissue incubated with leaf extracts of C. japonica 'C.M.Wilson' and C. japonica cv. 3 cultivars. The levels of TAC were increased by 41.7% and 44.8% ($p<0.05$) as compared with control group of muscle tissue homogenate. Leaf extracts of C. japonica 'La Pace' and C. japonica 'Kramer's Supreme' cultivars being incubated with muscle tissue have not changed the level of TAC, while the effect of the leaves extracts of C. japonica 'Mrs. Lyman Clarke' and C. japonica cv. 15 on the decreasing of TAC level was insignificant ($p>0.05$). The results of the *study suggested high antioxidant capacity of Camellia cultivars screened give reason to believe that application of these plant extracts signifies a rational curative strategy to prevent and cure various fish diseases involving oxidative stress by increasing the ability of fish organism to adapt. It was observed that the positive effect of camellia's preparations for treatment of various pathological conditions of the organism is associated with high content of the substances with high antioxidant activity responsible for its ability to reduce oxidative stress. The reactive oxygen species scavenging effect of Camellia extract demonstrated in this study might have been associated with flavonol or phenolic compounds. The obtained data suggested, that the level of TAC in samples of rainbow trout muscle tissue may be used as one of the indicators in order to assess the functional conditions of antioxidant system of the organism and effectiveness of exogenous antioxidant application.*

Key words: *rainbow trout (Oncorhynchus mykiss), total antioxidant capacity, Camellia japonica L.*

Введение

Развитие целого ряда патологических состояний организма, а также воздействие на организм ряда внешних факторов сопровождается усилением образования активных форм кислорода (АФК), которые могут вызвать повреждение биологически важных молекул и, в конечном итоге, привести к гибели клетки. В норме регуляция продукции АФК и свободных радикалов в клетках осуществляется многоуровневой физиологической антиоксидантной системой, включающей ферменты и соединения различной химической природы. Несмотря на высокую эффективность антиоксидантной системы, она не всегда способна защитить организм от развития окислительного стресса. В связи с этим одним из приоритетных направлений современной биологии является создание препаратов,

обладающих антиоксидантными свойствами, с целью их применения для профилактики и лечения заболеваний, сопровождающихся усилением свободнорадикальных реакций [29, 40].

Водная среда является резервуаром, содержащим многие вредные вещества (металлы, пестициды и т.д.), которые могут быть адсорбированы водными организмами, способствуя возникновению окислительного стресса [26, 28]. В этом случае происходит нарушение баланса между антиоксидантами и прооксидантами у рыб, при этом действие прооксидантов превосходит возможности антиоксидантной защиты организма [5, 19].

В последние годы выявлению связи между окислительными процессами, изменениями среды и жизненными стратегиями животных, в том числе развитием различных заболеваний, уделяется большое внимание. Однако большинство исследований сосредоточено на таксономических группах, к которым принадлежат птицы и млекопитающие, тогда как значительно меньшее внимание уделено рыбам, несмотря на их экологическое и социально-экономическое значение [5].

Использование иммуностимуляторов является одной из недавно возникших и активно развивающихся направлений в аквакультуре. Основные типы иммуностимуляторов, применяющихся в аквакультуре, включают: полисахариды, питательные вещества, олигосахариды, растительные препараты, антибактериальные пептиды и микроорганизмы [5, 39].

Во многих частях мира лекарственные растения, обладающие антиоксидантными свойствами, используются в аквакультуре для ускорения роста рыб, стимулирования иммунной системы и повышения устойчивости к различным заболеваниям [6, 38, 39].

Широкие перспективы для практического использования в качестве лекарственных препаратов антиоксидантного действия представляют биологически активные вещества растительного происхождения, например, вещества из растений рода *Camellia* L. Вместе с тем клиническое применение многих из них затруднено в связи с недостаточно изученным механизмом антиоксидантного действия, а также отсутствием недорогих и эффективных способов оценки состояния антиоксидантной системы.

В последнее время стал актуальным вопрос использования природных растительных ресурсов как источника средств с антиоксидантной и противомикробной активностью. Лекарственные растения являются естественными источниками соединений, которые можно использовать против многих заболеваний [11]. Учитывая нежелательные побочные эффекты синтетических лекарств, существует необходимость в разработке альтернативных методов лечения, менее опасных для людей и животных и оказывающих меньшее негативное воздействие на окружающую среду [37].

Природные растительные продукты могут быть ценным источником для изучения их антиоксидантных свойств в аквакультуре. Для проверки этого предположения, для оценки антиоксидантной активности был выбран род *Camellia* L., в частности, экстракты листьев. В рамках подготовки к этому исследованию была изучена этноботаническая литература по использованию различных представителей рода в традиционной медицине.

Род *Camellia* L. (*Theaceae* D.Don) насчитывает более 200 видов древесных вечнозеленых растений, распространенных в Восточной Азии – Китае, Тайване, Японии и Южной Корее [12]. Наиболее известным представителем рода *Camellia* является вид *Camellia japonica* L. Этот вид является популярным декоративным растением, используется как источник масла и применяется в народной медицине в Японии и Китае. Из семян *C. japonica* получают съедобное масло, известное как «масло цубаки» [8, 17, 36], традиционно использующееся в Восточной Азии в питании, как успокоительное средство, а также для восстановления эластичности кожи. Это масло также применяется для лечения всех типов кровотечений [14]. Известно использование масел камелий для эффективного контроля над бактериальными и грибковыми заболеваниями, а также некоторыми вредителями-насекомыми [27]. Цветки применяются в китайской традиционной медицине как препарат для лечения

гематемизации (рвота кровью) и синдрома застоя крови, а семена в японской народной медицине используют как желудочное и противовоспалительное средство. При смешивании с кунжутным маслом цветки применяются для лечения ожогов и ошпариваний [17, 41]. Отвар из листьев *C. japonica* используется в Японии для придания шелковистости и блеска волосам [2]. Также листья служат заменителем чая [2, 8].

C. japonica является перспективным растением для применения в современной фармацевтической промышленности и медицине, поскольку последние исследования показали ее выраженные антимикробные [13], антиоксидантные [22, 20], антиаллергические [15, 23], антивирусные [3, 24] и антиостеопоротические свойства [9].

Хотя фармакологическая активность камелий достаточно хорошо изучена, однако исследования относительно их защитных эффектов против окислительного стресса и окислительного повреждения, вызванного свободными радикалами, широко не проводились. Поэтому целью настоящего исследования является оценка влияния экстрактов, полученных из листьев различных сортов *C. japonica* на уровень общей антиоксидантной активности в мышечной ткани радужной форели *(Oncorhynchus mykiss* Walbaum).

Материалы и методы

В исследованиях использовались экстракты листьев сортов камелии японской (*Camellia japonica* L.) из коллекции отдела тропических и субтропических растений Национального ботанического сада имени Н.Н. Гришко Национальной академии наук Украины: *C. japonica 'Kramer's Supreme'*, *C. japonica 'C.M.Wilson'*, *C. japonica 'La Pace'*, *C. japonica 'Mrs. Lyman Clarke'*, *C. japonica* cv. 3*, C. japonica* cv. 15. Свежие листья промывали, взвешивали, измельчали и гомогенизировали в 0,1М фосфатном буфере (пропорция 1 : 19) при комнатной температуре. Все экстракты хранились при -20 °С в стерильных условиях.

Все биохимические анализы проводили на кафедре зоологии и физиологии животных Института биологии и охраны окружающей среды Поморского университета в Слупске (Польша). Радужная форель содержалась в отделе исследований лососевых рыб Института пресноводного рыбного хозяйства (Жуково, Польша). Использовали клинически здоровую радужную форель с массой тела 80–120 г, которую содержали в 250-литровых резервуарах (по 70–75 рыб) при температуре воды 16±2 °С и pH 7,5. Уровень растворенного кислорода составлял около 12 м.д. с дополнительной подачей кислорода с потоком воды 25 л/мин. Рыбу кормили коммерческим гранулированным кормом.

Мышечная ткань была выделена из рыб после быстрой декапитации. Образцы тканей промывали и гомогенизировали в ледяном 100 мМ Трис-HCl буфере (pH 7,2), используя стеклянный гомогенизатор H500 (POL-EKO). Полученные 10%-е гомогенаты центрифугировали при 3000g в течение 15 мин при 4 °С. После центрифугирования супернатант мышечной ткани рыб использовали для инкубации с экстрактами различных сортов *C. japonica* (в соотношении 19 : 1) при комнатной температуре. Контрольную группу (мышечную ткань форели) инкубировали с 100 мМ трис-HCl буфером (pH 7,2) (в соотношении 19:1). Время инкубации составляло 2 ч, после чего в инкубированном гомогенате изучали уровень общей антиоксидантной активности. Все биохимические анализы проводились при 22±0,5 °С с использованием спектрофотометра Specol 11 (Carl Zeiss Jena, Германия) в шести повторностях.

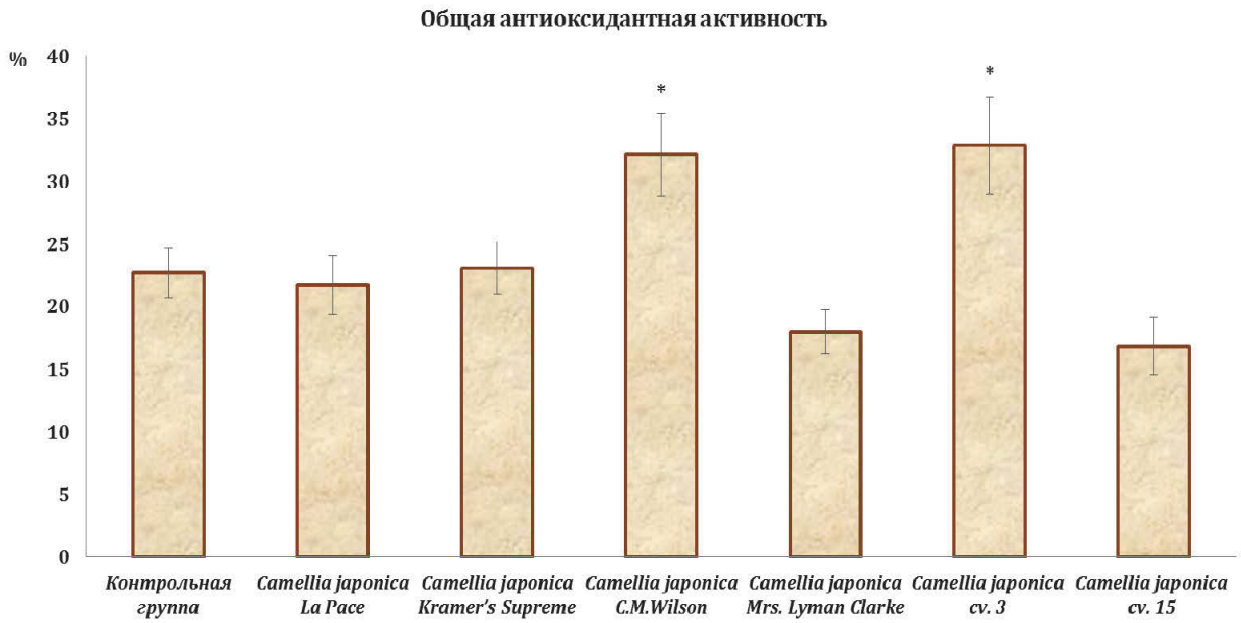
Оценка общей антиоксидантной активности (АОА) производилась путем измерения уровня железо- и аскорбат-индуцированного образования продуктов, которые реагируют с 2-тиобарбитуровой кислотой – маркерами перекисного окисления липидов – после окисления Tween-80. Этот уровень определялся спектрофотометрически при длине волны

532 нм [1]. Полученные результаты анализировали с помощью пакета программ STATISTICA 8.0 (StatSoft, Poland) [42].

Результаты и обсуждение

В настоящее время для оценки состояния антиоксидантной системы наряду с определением содержания отдельных антиоксидантов в тканях используют показатель, обозначаемый как общая антиоксидантная активность (АОА) [25]. АОА ткани – это интегральный показатель, отражающий ее способность противодействовать развитию свободнорадикальных реакций и окислительного стресса. Основными компонентами тест-систем для определения АОА являются: система генерации радикалов и субстрат или молекула-мишень, которая подвергается свободнорадикальному окислению. Добавление в модельную систему ткани, содержащей различные водо- и жирорастворимые антиоксиданты, приводит к уменьшению образования радикалов и торможению окисления субстрата. Изменение параметров окисления субстрата в присутствии исследуемой ткани, регистрируемое с помощью абсорбционной спектроскопии и других методов, используется для характеристики ее АОА.

Уровень общей антиоксидантной активности в мышечной ткани радужной форели при инкубации с экстрактами, полученными из листьев различных сортов *C. japonica,* представлено на рисунке.



Уровень общей антиоксидантной активности в мышечной ткани радужной форели при инкубации с экстрактами, полученными из листьев различных сортов C. japonica (M±m, n=6):
* – изменения статистически достоверные (p<0,05) в сравнении с контрольной группой
The level of total antioxidant activity in the muscular tissue of rainbow trout during incubation with extracts obtained from leaves of different sorts of C. japonica (M±m, n=6):
* – changes are statistically reliable (p<0,05)in comparison with the control group

Результаты исследований установили достаточно высокий уровень общей АОА в образцах мышечной ткани форели при инкубации с экстрактами из сортов *C. japonica 'C.M.Wilson'* и *C. japonica* cv. 3 – увеличение уровня АОА на 41,7 и 44,8 % (p<0,05) в сравнении с контрольной группой. Экстракты из листьев *C. japonica 'La Pace'* и *C. japonica 'Kramer's Supreme'* при инкубации с мышечной тканью радужной форели не изменяли

общей АОА, а экстракты из листьев *C. japonica 'Mrs. Lyman Clarke'* и *C. japonica* cv. 15 несущественно снизили уровень общей АОА (p>0,05).

Антиоксидантная активность камелий, очевидно, связана с присутствием вторичных метаболитов, блокирующих образование АФК. Например, из листьев *C. japonica* были выделены камеллидин II (3β,18β-дигидрокси-28-норолан-12-ен-16-он-3-O-D-глюкопиранозил-(1→2)-β-D-галактопиранозил-(1→3)-[β-D-галактопиранозил-(l→2)]-β-D-глюкуронопиранозид), камеллидин III (идентифицированный как его метиловый эфир), хининовая кислота, 3β,20-дигидроксилупан и 3,3'4-3-O-метилэллагиновая кислота [21]. Экстракты из листьев богаты комплексными танинами – камеллиантинами F и G [18]; камелиянинами C и E [10]; камелиянинами D, B и C, корнусиином B, (-)-эпикатехинами, три-O-метилгаллатами, диметилгексаметоксидифенатами и триметил-окта-O-метилвалонатами [9]; гликозидами флавонола (камеллианозид); флавонолгликозиды рутина, гиперозид и изоккерцитин были также выделены из листьев *C. japonica*. Структура камелиянозида была установлена как кверцетин-3-O-β-D-ксилопиранозил-(1→3)-O-α-L-рамнопиранозил-(1→6)-O-β-D-глюкопиранозид [22]. Бензоилглюкозид 4-гидрокси-2-метоксифенол 1-O-β-D-(6"-Op-гидроксилбензоил)-глюкопиранозид (камелдиадифенозид) и 13 известных фенольных соединений, а именно: (E)-конфириловый спирт, (-)-эпикатехин, 4-гидроксифенол 1-O-β-D-(6-Op-гидроксибензоил) глюкопиранозид, нариненин-7-O-β-D-глюкопиранозид, кверцетин-3-O-β-L-рамнопиранозил (1→6)-β-D-глюкопиранозид, каемпферол-3-O-β-L-рамнопиранозил (1→6) -β-D-глюкопиранозид (+)-катехин (8), 1,6-ди-ОП-гидроксибензоил-β-D-глюкопиранозид, 2-O-β-D-глюкопиранозид, кверцетин 3-O-β-D-глюкопиранозид, кверцетин-3-O-β-D-галактопиранозид, каемпферол-3-O-β-D-галактопиранозид и каемпферол 3-O-β-D-глюкопиранозид выделяли из листьев камелий [7]. Из листьев выделяли также глюкозид эллагиевой кислоты (оккамеллаизид), и его структура была идентифицированна как 4'-O-β-D-глюкопиранозид 3,4-диоксололагиновой кислоты [23]. Кверцетин 3-O-β-D-галактопиранозид, 3-O-β-D-глюкопиранозид кверцетина, 3-O-β-D-галактопиранозид каемпферола и 3-O-β-D-глюкопиранозид каемпферола также были идентифицированы в листьях *C. japonica* [17]. Агликонные флавоноиды (кверцетин, каемпферол и апигенин), гликозилированные флавоноиды (рутин и кверцетин) и шесть эфиров жирных кислот (метилтридеканоат, метилтетрадеканоат, метилпентадеканоат, метилгексадеканоат, метилгептадеканоат и метилоктадеканоат), для которых показана антиоксидантная активность, также присутствуют в экстрактах из листьев *C. japonica* [4].

Анализ литературы и полученные нами результаты свидетельствуют о том, что применение растительных экстрактов в аквакультуре имеет большие перспективы, прежде всего благодаря их доступности и механизму действия, направленного против широкого спектра патогенов [30–35]. К тому же большинство растительных экстрактов могут применяться пероральным путем, который является наиболее традиционным способом введения препарата для индуцирования иммунного ответа у рыб [39]. Вместе с тем требуются дальнейшие исследования, направленные на выявление стабильности растительного материала в водной среде, способности рыб к перевариванию растительных экстрактов, а также токсикологического воздействия экстрактов на организм как *in vitro,* так и *in vivo*, предполагающие безопасность применения растений в аквакультуре [6].

Выводы

В результате проведенных исследований было установлено положительное действие экстрактов листьев сортов *C. japonica 'C.M.Wilson'* и *C. japonica* cv. 3 на уровень общей антиоксидантной активности (АОА) в образцах мышечной ткани форели. Полученные нами данные относительно высокой антиоксидантной активности этих сортов *C. japonica* дают возможность применять эти препараты для лечения ряда заболеваний у рыб с целью

повышения их адаптационных возможностей. Отмечено положительное действие препаратов камелии при лечении различных патологических состояний организма в связи с большим содержанием веществ с высокой антиоксидантной активностью. Результаты проведенного исследования показывают, что АОА мышечной ткани радужной форели может использоваться в качестве одного из критериев оценки функционального состояния антиоксидантной системы организма и эффективности применения экзогенных антиоксидантов.

This study was carried out during Scholarship Program supported by The Polish National Commission for UNESCO in the Department of Zoology and Animal Physiology, Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk (Poland). We thank to The Polish National Commission for UNESCO for the supporting of our study.

Список литературы

1. Галактионова Л.П., Молчанов А.В., Ельчанинова С.А., Варшавский Б.Я. Состояние перекисного окисления больных с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки // Клин. лаб. диагностика. 1998. № 6. С. 10–14.

2. Джинчарадзе Н. Камелия на черноморском побережье Аджарии. Кутаиси: Сабчота Аджара, 1974. 99 с.

3. Akihisa, T. 3-epicabraleahydroxylactone and other triterpenoids from camellia oil and their inhibitory effects on Epstein-Barr virus activation / T. Akihisa, H. Tokuda, M. Ukiya, T. Suzuki, F. Enjo, K. Koike, T. Nikaido, H. Nishino // Chem. Pharm. Bull. 2004. 52(1). P. 153–156.

4. Azuma C.M., Santos F.C.S.D., Lago J.H.G. Flavonoids and fatty acids of ***Camellia japonica*** leaves extract // Rev. Bras. Farmacogn. 2011. 21(6). P. 1159–1162.

5. Birnie-Gauvin K., Costantini D., Cooke S.J., Willmore W.G. A comparative and evolutionary approach to oxidative stress in fish: A review // Fish and Fisheries. 2017. Vol. 18, Iss. 5. P. 928–942.

6. Bulfon C., Volpatti D., Galeotti M. Current research on the use of plant-derived products in farmed fish // Aquaculture Research. 2015. Vol. 46. P. 513–551.

7. Cho, J.Y. A novel benzoyl glucoside and phenolic compounds from the leaves of ***Camellia japonica*** / J.Y. Cho, S.H. Ji, J.H. Moon, K.H. Lee, K.H. Jung, K.H. Park // Food. Sci. Biotechnol. 2008. Vol. 17. P. 1060–1065.

8. Facciola S. Cornucopia. A source book of edible plants. Vista : Kampong Publishing, 1990. 677 p.

9. Hatano, T. Camelliatannin D, a new inhibitor of bone resorption, from ***Camellia japonica*** / T. Hatano, H. Li, S. Taniguchi, T. Okuda, Y. Kiso, T. Tanaka, T. Yoshida // Chem. Pharm. Bull. 1995a. 43(11). P. 2033–2035.

10. Hatano, T. Tannins and related polyphenols of theaceous plants. VIII. Camelliatannins C and E, new complex tannins from ***Camellia japonica*** leaves / T. Hatano, H. Li, S. Taniguchi, T. Shingu, T. Okuda, T. Yoshida // Chem. Pharm. Bull. 1995b. 43(10). P. 1629–1633.

11. Houston, M.C. Nonpharmacologic treatment of dyslipidemia / M.C. Houston, S. Fazio, F.H. Chilton, D.E. Wise, K.B. Jones, T.A. Barringer, D.A. Bramlet // Prog. Cardiovasc. Dis. 2009. 52(2). P. 61–94.

12. Hung Ta C., Bartholomew B. Camellias. Portland : Timber Press, 1984. 210 p.

13. Kim K.Y., Davidson P.M., Chung H.J. Antibacterial activity in extracts of ***Camellia japonica*** L. petals and its application to a model food system // J. Food Prot. 2001. 64(8). P. 1255–1260.

14. Kim, S.B. Anti-inflammatory activity of ***Camellia japonica*** oil / S.B. Kim, E.S. Jung, S.W. Shin, M.H. Kim, Y.S. Kim, J.S. Lee, D.H. Park // BMB Rep. 2012. 45(3). P. 177–182.

15. Kuba, M. In vivo analysis of the anti-allergic activities of ***Camellia japonica*** extract and okicamelliaside, a degranulation inhibitor / M. Kuba, K. Tsuha, K. Tsuha, G. Matsuzaki, T. Yasumoto // J. Health. Sci. 2008. 54(5). P. 584–588.

16. Kunkel G. Plants for human consumption. An annotated checklist of the edible phanerogams and ferns. Koenigstein : Koeltz Scientific Books, 1984. 393 p.

17. Lee, H.H. Isolation and identification of antioxidative phenolic acids and flavonoid glycosides from ***Camellia japonica*** flowers / H.H. Lee, J.Y. Cho, J.H. Moon, K.H. Park // Hortic. Environ. Biotechnol. 2011. 52(3). P. 270–277.

18. Li, H. Tannins of theaceous plants. V. Camelliatannins F, G and H, three new tannins from ***Camellia japonica*** L. / H. Li, T. Hatano, T. Yoshida, T. Okuda // Chem. Pharm. Bull. 1994. 42(7). P. 1399–1409.

19. Livingstone D.R. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms // Marine Pollution Bulletin. 2001. Vol. 42. P. 656–666.

20. Mizutani T., Masaki H. Anti-photoaging capability of antioxidant extract from *Camellia japonica* leaf // Exp. Dermatol. 2014. 23(1). P. 23–26.

21. Numata, A. An antifeedant for the yellow butterfly larvae in ***Camellia japonica***: a revised structure of camellidin II / A. Numata, A. Kitajima, T. Katsuno, K. Yamamoto, N. Nagahama, C. Takahashi, R. Fujiki, M. Nabae // Chem. Pharm. Bull. 1987. 35(9). P. 3948–3951.

22. Onodera K., Hanashiro K., Yasumoto T. Camellianoside, a novel antioxidant glycoside from the leaves of ***Camellia japonica*** // Biosci. Biotechnol. Biochem. 2006. 70(8). P. 1995–1998.

23. Onodera, K. Okicamelliaside, an extraordinarily potent anti-degranulation glucoside isolated from leaves of ***Camellia japonica*** / K. Onodera, K. Tsuha, M. Yasumoto-Hirose, K. Tsuha, K. Hanashiro, H. Naoki, T. Yasumoto // Biosci. Biotechnol. Biochem. 2010. 74(12). P. 2532–2534.

24. Park, J.C. Inhibitory effects of Korean medicinal plants and camelliatannin H from ***Camellia japonica*** on human immunodeficiency virus type 1 protease / J.C. Park, J.M. Hur, J.G. Park, T. Hatano, T. Yoshida, H. Miyashiro, B.S. Min, M. Hatorri // Phytother. Res. 2002. 16(5). P. 422–426.

25. Pisoschi, A.M. Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review / A.M. Pisoschi, G.P. Negulescu // Biochem. & Anal. Biochem. 2011. 1:106.

26. Sevcikova, H. Metals as a cause of oxidative stressing fish: a review / H. Sevcikova, H. Morda, A. Slaninova, Z. Svobodova // Veterirarni Medicina. 2011. 56(11). P. 537–546.

27. Shanan H., Ying G. The comprehensive utilization of camellia fruits // Am. Camellia Yearb. 1982. N 37. P. 104–107.

28. Slaninova, A. A review: oxidative stress in fish induced by pesticides / A. Slaninova, M. Smutna, H. Morda, Z. Svobodova // Neuro. Endocrinol. Lett. 2009. 30(1). P. 2–12.

29. Storey K.B. Oxidative stress: animal adaptations in nature // Braz. J. Med. Biol. Res. 1996. 29(12). P. 1715–1733.

30. Tkachenko, H. Antibacterial activity of ethanolic leaf extracts obtained from various *Ficus* species (*Moraceae*) against the fish pathogen, *Citrobacter freundii* / H. Tkachenko, L. Buyun, E. Terech-Majewska, Z. Osadowski // Baltic Coastal Zone – Journal of Ecology and Protection of the Coastline. 2016. Vol. 20. P. 117–136.

31. Tkachenko, H. Antibacterial screening of ethanolic extracts obtained from leaves of various *Ficus* species (Moraceae) against *Citrobacter freundii* / H. Tkachenko, L. Buyun, E. Terech-Majewska, Z. Osadowski // Тр. ВНИРО (Trudy VNIRO). 2017. 167. P. 138–149.

32. Tkachenko, H. Anti-*Pseudomonas fluorescens* efficacy of ethanolic extracts derived from the leaves of various *Ficus* species (Moraceae) / H. Tkachenko, L. Buyun, E. Terech-

Majewska, Z. Osadowski, V. Honcharenko, A. Prokopiv // Słupskie Prace Biologiczne. 2016. N 13. P. 295–316.

33. Tkachenko, H. *In vitro* antibacterial efficacy of various ethanolic extracts obtained from *Ficus* spp. leaves against fish pathogen, *Pseudomonas fluorescens* / H. Tkachenko, L. Buyun, E. Terech-Majewska, Z. Osadowski, Y. Sosnovskyi, V. Honcharenko, A. Prokopiv // Globalisation and regional environment protection. Technique, technology, ecology. Scientific editors Tadeusz Noch, Wioleta Mikołajczewska, Alicja Wesołowska. Gdańsk High School Publ., 2016. P. 265–286.

34. Tkachenko, H. *In vitro* antimicrobial activity of ethanolic extracts obtained from *Ficus* spp. leaves against the fish pathogen *Aeromonas hydrophila* / H. Tkachenko, L. Buyun, E. Terech-Majewska, Z. Osadowski // Arch. Pol. Fish. 2016. 24. P. 219–230.

35. Tkachenko, H. The antimicrobial activity of some ethanolic extracts obtained from *Ficus* spp. leaves against *Aeromonas hydrophila* / H. Tkachenko, L. Buyun, E. Terech-Majewska, Z. Osadowski, Y. Sosnovskyi, V. Honcharenko, A.Prokopiv // Тр. ВНИРО (Trudy VNIRO). – 2016. 162. P. 172–183.

36. Usher G. A dictionary of plants used by man. London : Constable, 1974. 619 p.

37. Valladao, G.M. Phytotherapy as an alternative for treating fish disease / G.M. Valladao, S.U. Gallani, F. Pilarski // J. Vet. Pharmacol. Ther. 2015. 38(5). P. 417–428.

38. Van Doan, H. Effect of *Lactobacillus plantarum* and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) on growth performance, immunity and disease resistance of Pangasius catfish (*Pangasius bocourti*, Sauvage 1880) / H. Van Doan, S. Doolgindachbaporn, A. Suksri // Aquaculture Nutrition. 2016. Vol. 22, Iss. 2. P. 444–456.

39. Wang, W. Application of immunostimulants in aquaculture: current knowledge and future perspectives / Wang Wei, Sun Jing, Liu Cenjie, Xue Zhang // Aquaculture Research. 2017. Vol. 48. P. 1–23.

40. Wilhelm Filho, D. Comparison between the antioxidant status of terrestrial and diving mammals / D. Wilhelm Filho, F. Sell, L. Ribeiro, M. Ghislandi, F. Carrasquedo, C.G. Fraga, J.P. Wallauer, P.C. Simoes-Lopes, M.M. Uhart // Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. 2002. 133(3). P. 885–892.

41. Yoshikawa, M. Bioactive saponins and glycosides. V. Acylated polyhydroxyolean-12-ene triterpene oligoglycosides, camelliasaponins A1, A2, B1, B2, C1, and C2, from the seeds of ***Camellia japonica*** L.: structures and inhibitory activity on alcohol absorption / M. Yoshikawa, T. Murakami, S. Yoshizumi, N. Murakami, J. Yamahara, H. Matsuda // Chem. Pharm. Bull. 1996. 44(10). P. 1899–1907.

42. Zar, J.H. Biostatistical Analysis 4th ed. New Jersey : Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, 1999. 663 p.

Сведения об авторах: Харченко Игорь Иванович: кандидат биологических наук, e-mail: kharchenko.ing@gmail.com;

Маринюк Мирослава Михайловна, ведущий инженер, e-mail: Miroslava.Marinyuk@yandex.ru;

Ткаченко Галина Михайловна, e-mail: кандидат биологических наук, e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl;

Буюн Людмила Ивановна, доктор биологических наук, e-mail: buyun@nbg.kiev.ua;

Пажонтка-Липинский Павел, студент, e-mail: pajo7@vp.pl;

Виташек Марлена, студентка, e-mail: mena9wit@wp.pl;

Осадовский Збигнев, доктор биологических наук, профессор, e-mail: zbigniew.osadowski@apsl.edu.pl.