

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН**

РУДЕНКО ОЛЬГА ПЕТРІВНА

УДК 550.385.2;612.017;678.048; 639.21:597.551.2

**СЕЗОННІ ОСОБЛИВОСТІ ТА ФАКТОРИ РЕГУЛЯЦІЇ ІМУННОГО
ПОТЕНЦІАЛУ Й АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У КОРОПОВИХ РИБ**

03.00.04 – біохімія

Автореферат

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата ветеринарних наук

Львів – 2018

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті біології тварин НААН.

Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, професор
Віщур Олег Іванович,
Інститут біології тварин НААН, завідувач лабораторії
імунології.

Офіційні опоненти: доктор ветеринарних наук, старший науковий
співробітник **Куртяк Богдан Михайлович**,
Львівський національний університет ветеринарної
медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького МОН
України, завідувач кафедри епізоотології;

доктор ветеринарних наук, професор
Томчук Віктор Анатолійович,
Національний університет біоресурсів і
природокористування України МОН України,
завідувач кафедри біохімії і фізіології тварин
ім. академіка М. Ф. Гулого.

Захист відбудеться «11» вересня 2018 р. о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої
вченої Д 35.368.01 в Інституті біології тварин НААН за адресою:
79034, м. Львів, вул. В. Стуса, 38.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту біології тварин НААН
за адресою: 79034, м. Львів, вул. В. Стуса, 38.

Автореферат розісланий «10» серпня 2018 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

А. В. Гунчак

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Однією з актуальних проблем сучасного ставового рибництва в Україні є зниження резистентності риб, що зумовлено негативною дією низки чинників: неповноцінною годівлею, дією екологічних факторів, порушенням технологій вирощування (Давидов О. І., 2004; Грициняк І. І., 2007; Akinrotimi O. A. et al., 2013; FAO, 2016). Про це свідчить зменшення стійкості риб до захворювань за дії вказаних чинників. Водночас швидкість росту ставових риб, їх резистентність до захворювань і відповідно якість одержуваної продукції значною мірою залежать від дії сезонних чинників, які суттєво впливають на обмін речовин, активність імунної й антиоксидантної систем у їх організмі (Вовк Н. І., Божик В. Й., 2014; Ekasari J. et al., 2014; Asar J., 2015). Проведені в останні роки дослідження свідчать про тісний зв'язок між активністю імунної й антиоксидантної систем в організмі тварин (Грициняк І. І. зі співавт., 2010; Firdaus-Nawi M., Zamri-Saad M., 2016; Rehman S. et al., 2017). Цим зумовлена актуальність вивчення сезонної динаміки активності імунної й антиоксидантної систем у різних видів і порід ставових риб.

Найбільш поширеними породами ставових риб в Україні є короп і сазан, які різняться чутливістю до сезонних змін умов середовища, насамперед температури води і вмісту в ній кисню, а також продукції мелатоніну (Олексієнко О. О., Грициняк І. І., 2007; Олексюк Н. П., Куртяк Б. М., Янович В. Г., 2008; Ping L. et al., 2010; Sakineh Y., 2011; Кернасюк Ю., 2014; Лебська Т. К., Голембовська Н. В., 2014).

Вітаміни та їх метаболіти мають важливе значення для фізіологічних процесів (Ramakrishna R. et al., 2013; Куртяк Б. М. зі співавт., 2015). Сьогодні нормативні значення жиророзчинних вітамінів добре вивчені у сільськогосподарських тварин. Проте, кількісну потребу в жиророзчинних вітамінах, і, особливо, мікроелементах Zn, Se, I, а також їх вплив на функцію імунної й антиоксидантної систем у риб досліджено лише у деяких видів (Chanda et al., 2015; Томчук В. А., 2017).

Наявні в літературі дані фрагментарні, а повідомлень щодо динаміки пероксидних процесів, стану імунної й антиоксидантної систем захисту в різних порід коропа у весняний, літній та осінній періоди практично немає. З метою запобігти зниженню функціональної активності системи антиоксидантного захисту (САЗ) та імунного потенціалу деякі дослідники пропонують додавати до корму природні або синтетичні антиоксиданти (Віщур О. І., 2012; Sharifzadeh et al., 2015). Тому наші дослідження були скеровані на вивчення сезонних особливостей функціонування імунної й антиоксидантної систем у різних порід коропових риб, а також з'ясування впливу жиророзчинних вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Цинку, Селену і Йоду на активність цих систем.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в межах науково-дослідних робіт Інституту біології тварин НААН у 2012–2017 рр. за завданнями: 31/7.03.06. «Вивчити вплив різного рівня жиророзчинних вітамінів і мікроелементів у раціоні на обмін речовин в організмі коропа, його ріст, резистентність, репродуктивну функцію і якість м'яса» (№ ДР 00111U006135), 33.00.00.16 «Дослідити стан імунної й антиоксидантної систем коропа і сазана за дії імуноотропних засобів» (№ ДР 117U004897), у яких

авторка вивчала сезонні особливості, а також вплив жиророзчинних вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Цинку, Селену та Йоду на активність системи антиоксидантного захисту, стан природного й адаптивного імунітету в корокових риб.

Мета і завдання дослідження. Мета дисертаційної роботи полягала у з'ясуванні впливу сезонних чинників, а також жиророзчинних вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Цинку, Селену і Йоду на гематологічний профіль, стан імунної й антиоксидантної систем коропа лускатого, коропа рамчастого і сазана.

Для досягнення поставленої мети у завдання дисертаційної роботи входили дослідження:

- вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і активності САЗ у крові дворічок рамчастого й лускатого короїв і сазанів у весняний, літній та осінній періоди і за дії вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Цинку, Селену і Йоду в коропа рамчастого й сазана в кінці вегетаційного періоду;

- вмісту гемоглобіну, кількості еритроцитів, лейкоцитів та співвідношення їх окремих форм у крові корокових риб у вказані періоди досліджень;

- кількості Т- і В-лімфоцитів і їх функціональної активності в рецепторній і проліферативній фазах імунної відповіді та стану клітинної і гуморальної ланок неспецифічної резистентності у крові вказаних порід корокових риб за впливу сезонних чинників та за дії жиророзчинних вітамінів і мікроелементів у складі біологічно активної добавки до комбікорму;

- вмісту Цинку та Селену в органах і тканинах коропа рамчастого і сазана в кінці вегетаційного періоду за дії вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Цинку, Селену та Йоду.

За результатами дисертаційної роботи розробити спосіб підвищення імунного потенціалу й антиоксидантного захисту в корокових риб.

Об'єкт дослідження: стан системи антиоксидантного захисту та імунного потенціалу у різних порід корокових риб за дії сезонних чинників та комплексу вітамінів і мікроелементів.

Предмет дослідження: показники ПОЛ, активність ензимів САЗ, клітинних і гуморальних факторів імунітету в корокових риб у весняний, літній і осінній періоди й за дії вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Zn, Se, I у кінці вегетаційного періоду.

Методи досліджень: біохімічні (спектрофотометрія — визначення ензиматичних активностей, вмісту субстратів і продуктів метаболічних реакцій, концентрації Селену та Цинку у тканинах і органах), імунологічні (визначення клітинних і гуморальних показників імунітету), морфологічні (еритроцити, лейкоцити, лейкограма), рибоводні (ріст і маса риб), гідрохімічні (хімічний склад води), статистичні (метод варіаційної статистики з використанням t-критерію Стюдента).

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше здійснено комплексну характеристику гематологічного профілю, стану природного й адаптивного імунітету, процесів ПОЛ, активності САЗ у різних порід корокових риб за впливу сезонних чинників та за дії жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку та Йоду в складі добавки до комбікорму.

Уперше за умов експериментальних досліджень проведено порівняльний аналіз імунного потенціалу й антиоксидантного захисту у коропа рамчастого, коропа лускатого та сазана за впливу сезонних чинників.

Доведено і проаналізовано функціональний зв'язок між вмістом Селену та Цинку в органах і тканинах коропа рамчастого та сазана й інтенсивністю процесів ПОЛ, активністю антиоксидантних ензимів та імунним потенціалом досліджуваних риб за умов застосування вітамінів А, D₃, Е і мікроелементів Цинку Селену та Йоду у складі добавки до комбікорму.

За результатами дисертаційної роботи отримано патент на корисну модель № 124321 «Спосіб підвищення імунного потенціалу та продуктивності коропових риб» (від 06.06.2017 р.).

Практичне значення одержаних результатів. На основі теоретичних узагальнень і проведених досліджень підготовлено методичні рекомендації та розроблено і впроваджено в практику вітамінно-мінеральну добавку для риб з метою підвищення адаптаційних можливостей організму, збільшення приросту маси.

Результати досліджень мають важливе теоретичне значення щодо біохімічних та імунологічних процесів, які лежать в основі сезонних змін і породних особливостей метаболізму риб. Отримані дані використовуються у навчальному процесі в Національному університеті біоресурсів і природокористування України та у Львівському національному університеті ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького. Рекомендовано для введення у навчальні програми низки дисциплін на ветеринарних та біологічних факультетах вищих навчальних закладів третього і четвертого рівнів акредитації.

Особистий внесок здобувача. Здобувачка самостійно проаналізувала наукову літературу за темою дисертації, брала участь у формуванні схеми проведення дослідів та виконанні експериментальної частини роботи, статистично опрацювала результати досліджень, підготувала статті до опублікування, написала дисертаційну роботу. Аналіз результатів експериментальних досліджень, формулювання висновків та пропозицій виробництву проведено за участі наукового керівника.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи оприлюднені й отримали загальне схвалення на щорічних звітах Інституту біології тварин НААН у 2012–2017 рр. і на трьох всеукраїнських конференціях: «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (5–6 грудня, 2014; 8–9 грудня, 2016; 8–9 грудня, 2017, м. Львів); а також на п'яти міжнародних науково-практичних конференціях: «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (2–3 жовтня, 2015; 29–30 вересня, 2016, м. Львів); «Nauki przyrodnicze we współczesnym świecie» (2 czerwca, 2017, Szczecin, Poland); «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» (26–28 квітня, 2017, м. Запоріжжя); «Аграрна наука та освіта Поділля» (14–16 березня, 2017, м. Кам'янець-Подільський).

Публікації за темою дисертації. Основні положення дисертаційної роботи й отримані результати досліджень опубліковані у 16 наукових працях (7 — у журналах, 1 — у бюлетені, 3 — у вісниках, 2 — у збірниках, 1 — тези в

закордонному науковому виданні), з яких 6 статей у наукових фахових виданнях, у тому числі 4 — у журналах, що включені до наукометричних баз даних, 1 — одноосібна стаття, методичні рекомендації, патент на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел літератури. Дисертаційна робота викладена на 168 сторінках комп'ютерного тексту (основна частина – 114 сторінок). Робота містить 29 таблиць і 9 додатків. Список використаних джерел налічує 320 найменувань, у тому числі – 212 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Огляд літератури за темою дисертації. У п'яти підрозділах огляду літератури наведені дані щодо породних особливостей короїв, впливу сезонних факторів на антиоксидантний захист, стан природного й адаптивного імунітету та вплив вітамінів А, D₃, Е і мікроелементів Zn, Se, І на імунний потенціал та антиоксидантний захист, ріст і збереженість короїв риб.

Вибір напрямів досліджень, матеріали й методи виконання роботи. Дисертаційна робота була виконана впродовж 2012–2017 рр. у лабораторії імунології Інституту біології тварин НААН. Експериментальну частину роботи проведено на базі Львівської дослідної станції Інституту рибного господарства НААН.

Дослідження проведені у два етапи. На першому етапі досліджень з'ясовували вплив сезонних чинників на гематологічний профіль, стан імунної й антиоксидантної систем у короїв риб. Дослідження проводили на трьох групах ставових риб дворічного віку: рамчастий короп, лускатий короп і сазан. Коропа лускатого і коропа рамчастого вирощували в одному ставі, а сазана — окремо, у розміщеному поряд. Щільність посадки становила 800–1000 екз./га водного дзеркала. Гідрохімічний режим у ставах підтримували в межах рибоводних нормативів (Алькін О. А., 1970). Особливий контроль здійснювали за лімітуючими чинниками, зокрема, за вмістом кисню у воді, перманганантною окисненістю, значення яких не допускали нижче 2,5 мг/л для кисню та вище 19,0 мг/л окиснюваності. Середньостатистична температура води в період досліджень за травень становила 17,6±1,01 °С, за серпень — 20,0±0,5, за жовтень — 13,6±0,28 °С.

Матеріалом для дослідження слугувала кров, яку брали із серця риб по 5 особин з кожної групи у різні пори року: весною (травень), літом (серпень) і осінню (жовтень).

Мета другого етапу досліджень полягала у з'ясуванні впливу вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Zn, Se, І у складі добавки до комбікорму на стан імунної й антиоксидантної систем у короїв риб. Дослід проведено на двох групах риб (короп рамчастий і сазан) дворічного віку, яких за принципом аналогів поділено на дві контрольні та дві дослідні групи по 10 особин у кожній. Риб утримували у спеціальних лотках за умов постійної замкненої системи циркуляції води (RAS).

Температура води становила 18 °С. Риbam контрольних груп упродовж 30 діб згодовували стандартний гранульований комбікорм (Остроумова Н. И., 2001). Особидам дослідних груп згодовували аналогічний комбікорм з добавками препарату «Тривіт» з розрахунку 2500 МО вітаміну А, 3333 МО вітаміну D₃, 1,7 мг вітаміну Е, а також 5 мг/кг калію йодистого, 40 мг/кг цинку сульфату та 0,3 мг/кг натрію селеніту на кілограм корму. Дослідження проведено в осінній період (у вересні). Матеріалом для досліджень слугувала кров, яку брали з серця риб, використовуючи піпетки Пастера, а після забою — зразки гепатопанкреасу, нирок і скелетних м'язів, які брали у риб через місяць від початку згодовування вітамінно-мінеральної добавки.

У гемолізатах еритроцитів і гомогенатах тканин риб визначали активність ензимів — супероксиддисмутази (ЕС 1.15.1.1; Дубинина Є. Є. с соавт., 1983) каталази (ЕС 1.11.1.6; Королюк М. А. с соавт., 1988), глутатіонпероксидази (ЕС 1.11.1.9; Моин В. М., 1986) та вміст відновленого глутатіону (Батлер Э. с соавт., 1982). У плазмі крові визначали вміст продуктів ПОЛ — гідропероксидів ліпідів (Мирончик В. В., 1998) і ТБК-активних продуктів (Коробейникова Э. Н., 1989).

У стабілізованій гепарином крові визначали величину гематокриту, концентрацію гемоглобіну та кількість еритроцитів за методичними рекомендаціями (Селиверстов В. В., 1999).

Кількість лейкоцитів та їх окремих видів підраховували за допомогою візуальної мікроскопії (Іванова Н. Т., 1983). Лімфоцити виділяли зі стабілізованої гепарином крові у градієнті фікол-верографіну ($\rho=1,077$ г/мл; Boyum F., 1968). Загальну кількість Т-лімфоцитів (Е-РУЛ) визначали в реакції спонтанного розеткоутворення з еритроцитами вівці (Jondal M. et al., 1972), їх субпопуляції – Т-хелпери (Th-РУЛ; Суровас В. М., с соавт., 1980); кількість «активних» Т-лімфоцитів (ТА-РУЛ; Wansbrough-Jones M. et al., 1979); кількість Т-клітин із переважно супресорною активністю (Ts-РУЛ) – відніманням кількості теофілін резистентних Т-клітин від загальної кількості Т-лімфоцитів, імунорегуляторний індекс (ІРІ) обчислювали за співвідношенням Th/Ts. Диференціювали лімфоцити на нульові, низькоавідні, середньоавідні та високоавідні. Функціональну активність Т-лімфоцитів досліджували в реакції бластної трансформації лімфоцитів із фітогемаглютиніном (Болотников И. А., Конопатов Ю. В., 1987). В-лімфоцити (ЕАС-РУЛ) визначали в реакції комплементарного розеткоутворення з еритроцитами вівці (Чернушенко Е. Ф. зі співавт., 1979).

Фагоцитарну реакцію крові оцінювали за фагоцитарною активністю (ФА), фагоцитарним індексом (ФІ) і фагоцитарним числом (ФЧ; Гостев В. С., 1950).

У сироватці крові досліджували бактерицидну активність (БАСК; Марков Ю. М., 1968), лізоцимну активність (ЛАСК; Дорофейчук В. Г., 1968). Визначення БАСК, ЛАСК і ФА проводили з урахуванням специфіки дослідів на гідробіонтах, використовуючи відповідні добові культури лабораторних штамів і температурний режим культивування (Микряков В. Р. с соавт., 2001). Визначали вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) преципітацією поліетиленгліколем (Чернушенко Е. Ф., Когосова П. С., 1981), а також концентрацію загального протеїну за

Лоурі (Влізло В. В. зі співавт., 2012). У гепатопанкреасі та скелетних м'язах короїв досліджували вміст Селену та Цинку методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії (Прайс В., 1972).

Представлені матеріали дисертації щодо проведення лабораторних, наукових і експериментальних досліджень відповідають вимогам норм біоетичної експертизи згідно з Наказом МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р., Конвенцією Ради Європи про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р. і Директивою ЄЕС № 609 від 24.11.1986 р., що підтверджено протоколом № 67 від 6 лютого 2018 р. комісії біоетичної експертизи Інституту біології тварин НААН.

Отримані результати досліджень опрацьовано методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Ст'юдента. Обчислювали середні арифметичні значення (М), похибки середніх значень ($\pm m$) та вірогідність різниці між середніми величинами (р). Різницю між двома середніми величинами вважали вірогідною за $p < 0,05; 0,01; 0,001$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Інтенсивність процесів ПОЛ і активність САЗ у крові короїв риб за дії сезонних чинників. Результати проведених досліджень показали, що інтенсивність процесів ПОЛ та активність ензимної ланки САЗ у крові короїв риб значною мірою залежали від дії сезонних чинників і породних особливостей. Зокрема, як бачимо з даних, представлених на рис. 1, вміст ТБК-активних продуктів у плазмі крові рамчастих короїв у весняний і осінній періоди та гідропероксидів ліпідів у осінній період менший ($p < 0,01-0,001$), ніж у лускатих короїв.

Водночас у плазмі крові сазанів, порівняно з лускатими короями, виявлено на 8,3 % більший вміст ТБК-активних продуктів у весняний і на 40,3 % — ГПЛ у літній період досліджень.

Щодо впливу сезонних чинників слід зауважити, що в осінній період вміст проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ у крові лускатих та рамчастих короїв і сазанів більший ($p < 0,05-0,001$), ніж у весняний період досліджень (див. рис.1).

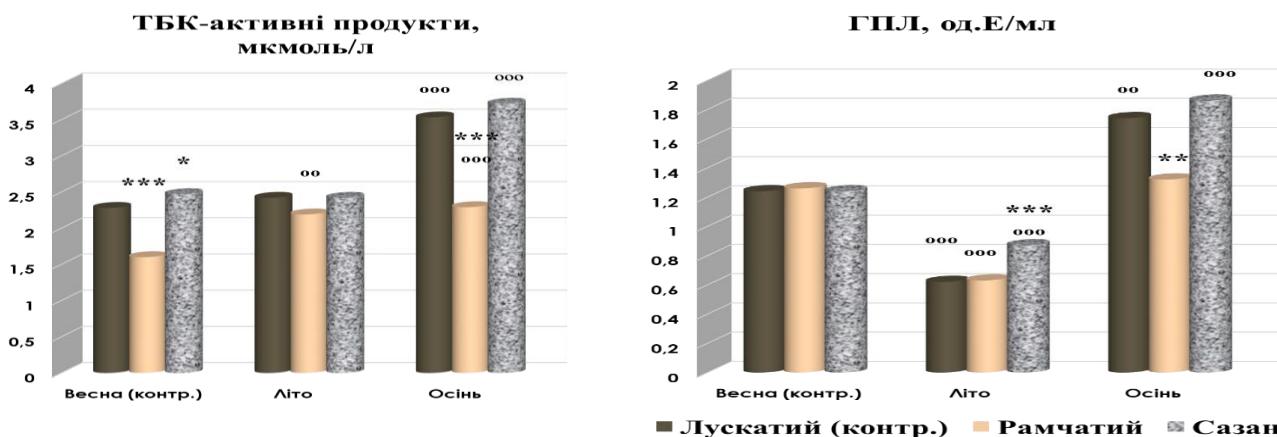


Рис. 1. Сезонна динаміка вмісту продуктів ПОЛ у плазмі крові короїв риб.

Примітка. На цьому й наступних рисунках різниця вірогідна порівняно з лускатими короями (*– $p < 0,05$; **– $p < 0,01$; ***– $p < 0,001$) та з весняним періодом досліджень (°– $p < 0,05$; °°– $p < 0,01$; °°°– $p < 0,001$).

При цьому вміст ГПЛ, які утворюються на проміжній стадії ПОЛ, у плазмі крові досліджуваних риб у літній період у 1,5–2,0 рази ($p < 0,001$) менший, ніж у весняний і, особливо, в осінній періоди.

Активність ензимів САЗ у крові корошових риб також значною мірою залежала від дії сезонних чинників (рис. 2). Так, зафіксовано зниження (більш, ніж у 4–5 разів) СОД і ГП активності у крові коропа рамчастого, коропа лускатого та сазана в осінній і літній періоди порівняно з весняним.

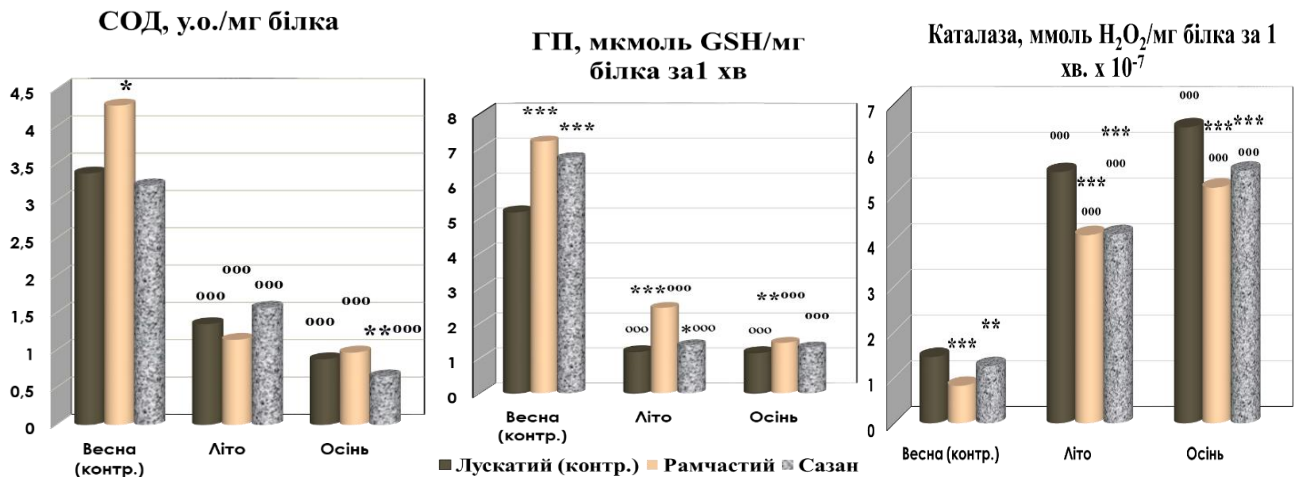


Рис. 2. Сезонна динаміка активності антиоксидантних ензимів у гемолізатах еритроцитів корошових риб.

На відміну від СОД і ГП, каталазна активність у гемолізатах еритроцитів досліджуваних риб у літній і, особливо, осінній періоди у 4–6 разів ($p < 0,001$) вища, ніж у весняний. При цьому також у крові досліджуваних особин у літній та осінній періоди порівняно з весняним зафіксовано у 3–5 разів ($p < 0,001$) більший вміст відновленого глутатіону.

Аналіз особливостей ензимної ланки САЗ досліджуваних порід риб показав значно вищу ГП і нижчу каталазну активність у крові сазанів і рамчастих корошов, порівняно з лускатими в усі періоди досліджень ($p < 0,05–0,001$).

Результати цих досліджень свідчать про протилежні за напрямом зміни СОД, ГП й каталазної активності та вмісту відновленого глутатіону в літній і осінній періоди, порівняно з весняним, а також про обернену залежність між змінами вмісту продуктів ПОЛ і активністю СОД та ГП, ключовими ензимами САЗ у крові корошових риб.

Таким чином, особливістю функціонування САЗ у крові корошов є сезонна зміна її активності, що є проявом адаптаційного механізму організму риб до кисневого режиму водойми, зниження інтенсивності споживання кормів та зміни вихідних субстратів окиснення. Водночас, як свідчать отримані дані, ці процеси у корошових риб значною мірою залежать від генетичної характеристики досліджуваних порід.

Гематологічний профіль і стан клітинної та гуморальної ланок імунітету корошових риб за дії сезонних чинників. Дослідження показали, що кількість

еритроцитів і середня концентрація гемоглобіну в еритроциті у крові сазанів у осінній період в 1,4 ($p<0,01$) і 1,2 разу ($p<0,001$) більші, ніж у цей же період у лускатих коропів.

Стосовно впливу сезонних чинників необхідно зауважити, що кількість еритроцитів, гематокритна величина, вміст гемоглобіну у крові коропа лускатого, коропа рамчастого та сазана в осінній період значно більша ($p<0,05-0,001$), ніж у весняний період.

Отримані результати досліджень свідчать про значне зниження кисень-транспортної функції крові у риб у весняний період, порівняно з літнім і осіннім періодами. На це також вказують вищі ($p<0,05-0,001$) індекси крові (колірний показник, середня концентрація гемоглобіну в еритроциті та середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті) у досліджуваних риб у літній період порівняно з весняним.

Кількість лейкоцитів у крові коропа рамчастого, коропа лускатого та сазана в літній і, особливо, осінній період досліджень була відповідно на 21,9 ($p<0,001$), 18,2 ($p<0,01$) і 13,9 % ($p<0,01$) більша, ніж у весняний. У результаті дослідження окремих форм лейкоцитів виявлено більшу на 8,8 ($p<0,001$), 5,1 ($p<0,05$) і 8,1 % ($p<0,01$) кількість лімфоцитів і меншу у 2,0–4,1 разу ($p<0,05-0,001$) моноцитів і сегментоядерних нейтрофілів у крові досліджуваних особин у літній і осінній періоди порівняно з весняним.

Загальна кількість Т- і В-лімфоцитів, а також їх регуляторних популяцій у крові коропових риб значною мірою залежала від впливу сезонних чинників (рис. 3). Зокрема, загальна кількість Т-лімфоцитів та їх субпопуляцій із низькою і середньою щільністю рецепторів у крові коропа рамчастого та сазана у літній і осінній періоди досліджень була більша ($p<0,05-0,001$), а «нульових», недиференційованих функціонально клітин — менша ($p<0,001$), ніж у лускатих коропів. При цьому зміни були виражені більшою мірою у крові сазанів. Так, кількість ТЕ-РУЛ із середньою щільністю рецепторів у літній та осінній періоди зросла відповідно у 2,6 ($p<0,001$) і 4,6 разу ($p<0,001$), а «нульових» зменшилась у 1,2 ($p<0,001$) і 1,5 ($p<0,001$) разу порівняно з весняним періодом досліджень.

Кількість Т-активних лімфоцитів у крові коропа лускатого в осінній період більша ($p<0,001$), а в літній — менша ($p<0,05$), ніж у весняний. При цьому в осінній період зафіксовано також більшу ($p<0,001$) кількість Т-активних лімфоцитів у крові сазанів, порівняно з весняним. Зміни кількості ТА-РУЛ у крові рамчастих коропів упродовж експерименту були не вірогідні (див. рис. 3).

Зафіксовано вірогідно більшу кількість теофілінрезистентних Т-лімфоцитів у крові лускатих коропів і сазанів в осінній період та у сазанів у літній період досліджень порівняно з весняним. Щодо ступеня їх диференціації, то зміни кількості Th-лімфоцитів у крові лускатих коропів і сазанів у вказані періоди досліджень відбувалися за збільшення ($p<0,05-0,001$) популяції низькоавідних Th-клітин і зменшення ($p<0,05-0,001$) «нульових», функціонально недиференційованих теофілінрезистентних Т-лімфоцитів.

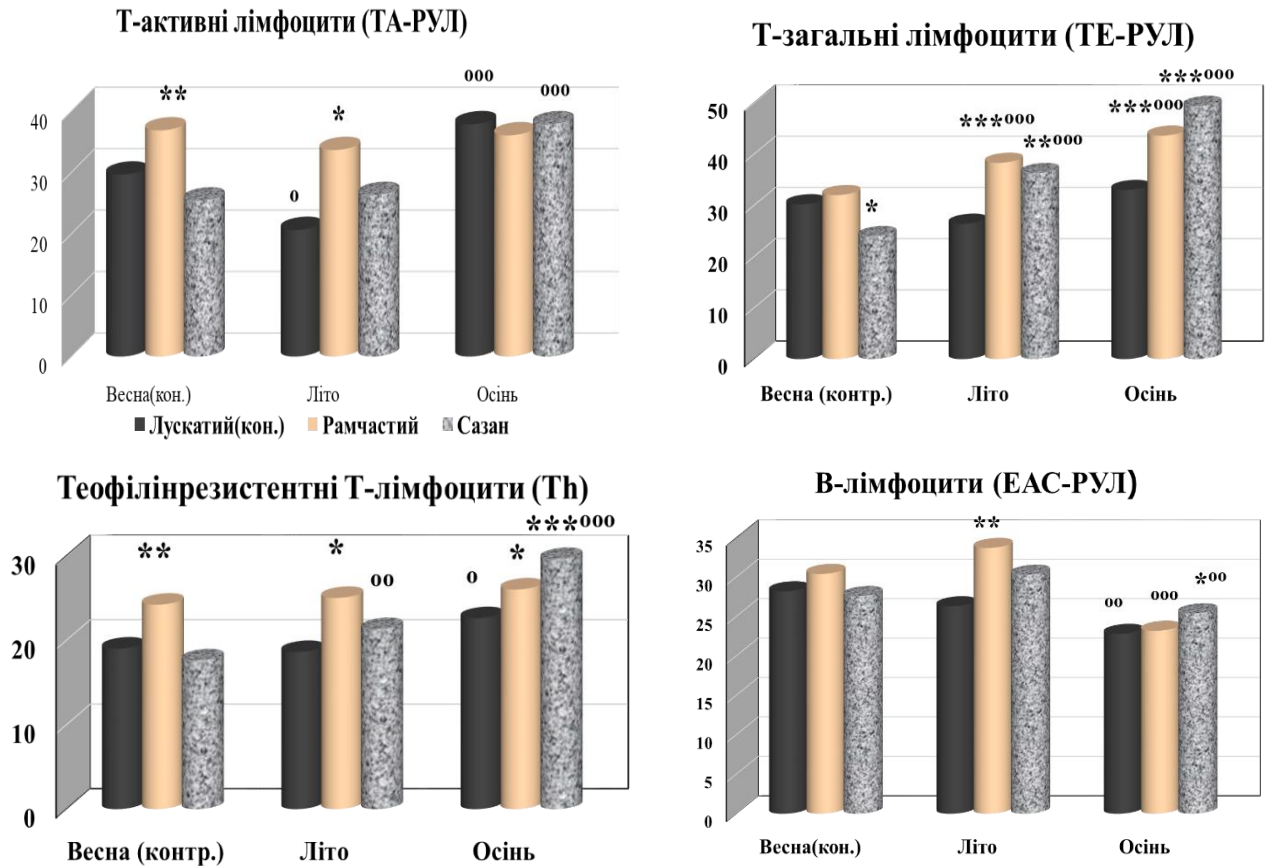


Рис. 3. Сезонна динаміка кількості Т- і В-лімфоцитів у крові корошових рибу, %.

Кількість теофілінчутливих Т-лімфоцитів (Т-супресори) у крові сазанів у літній і осінній періоди зросла відповідно у 2,4 ($p < 0,001$) і 3,2 разу ($p < 0,001$), а у рамчастих корошов — у 2,0 ($p < 0,001$) і 2,3 разу ($p < 0,001$) порівняно з їх кількістю у весняний період досліджень. При цьому у крові рамчастих корошов і сазанів у літній і осінній періоди кількість Т-супресорів більша ($p < 0,05$ – $0,001$), а у весняний період менша ($p < 0,05$), ніж у лускатих корошов.

Зменшилась більше ніж удвічі ($p < 0,01$ – $0,001$) величина імунорегуляторного індексу в крові рамчастих корошов і сазанів у літній і осінній періоди досліджень порівняно з весняним. Так, у лускатих корошов зафіксовано підвищення функціональної активності лімфоцитарної ланки імунітету в літній і осінній періоди порівняно з весняним. Імунорегуляторний індекс у крові рамчастих корошов і сазанів у весняний період відповідно в 1,8 ($p < 0,01$) і 1,7 ($p < 0,05$) разу більший, а в літній у 1,6 ($p < 0,05$) і 1,7 ($p < 0,01$) разу менший, ніж у лускатих корошов.

Дослідження функціональної активності Т-лімфоцитів у реакції бластної трансформації лімфоцитів (РБТЛ) показали, що кількість бластних клітин у крові лускатих корошов і сазанів в осінній період більша ($p < 0,001$), ніж у весняний. При цьому у крові лускатих корошов у літній період за дії на Т-лімфоцити мітогену відбувалося пригнічення РБТЛ, порівняно з весняним періодом досліджень ($p < 0,05$). Водночас у крові рамчастих корошов, порівняно з лускатими, у весняний і літній

періоди досліджень зафіксовано посилення ($p<0,05$; $p<0,001$) імунної відповіді Т-лімфоцитів крові до бластної трансформації на фітогемаглютинін.

При дослідженні В-клітинної ланки імунітету риб констатовано вірогідно меншу кількість В-лімфоцитів у крові рамчастих і лускатих коропів і сазанів у осінній період, порівняно до весняного (див. рис. 3). Ці зміни кількості ЕАС-РУЛ у крові рамчастих коропів і сазанів відбувалися на тлі зменшення кількості «нульових» і збільшення середньоавідних В-лімфоцитів.

Таким чином, отримані результати досліджень свідчать, що активність Т- і В-клітинної ланок імунітету корокових риб зазнавала суттєвих змін за дії сезонних чинників і залежала від породних особливостей. У рамчастих коропів і сазанів зафіксовано вищий потенціал клітинної ланки специфічної імунної відповіді, що свідчить більша ($p<0,05$ – $0,001$), ніж у лускатих коропів, кількість Т- і В-лімфоцитів у крові та вища їх функціональна активність.

Дослідження показників неспецифічної резистентності показали (рис. 4), що у рамчастого коропа виявлено зниження на 7,6 % ($p<0,001$) бактерицидної активності сироватки крові у літній період та збільшення на 5,8 % ($p<0,05$) в осінній, а у сазана влітку цей показник був вірогідно вищим, ніж у коропа лускатого. Як впливає з одержаних даних, БАСК у лускатих коропів у літній і осінній періоди досліджень відповідно на 7,4 і 11,6 % нижча, ніж у весняний. Подібні зміни зареєстровано в сазанів у осінній період досліджень, де БАСК нижча на 10,2 %, ніж у весняний. При цьому відбулося зниження на 8,7 % ($p<0,01$) лізоцимної активності сироватки крові у цієї породи коропа у літній період порівняно з весняним. Слід зауважити вищу на 16,2 % ($p<0,05$) лізоцимну активність сироватки крові у сазанів порівняно з лускатими коропами у весняний період досліджень.

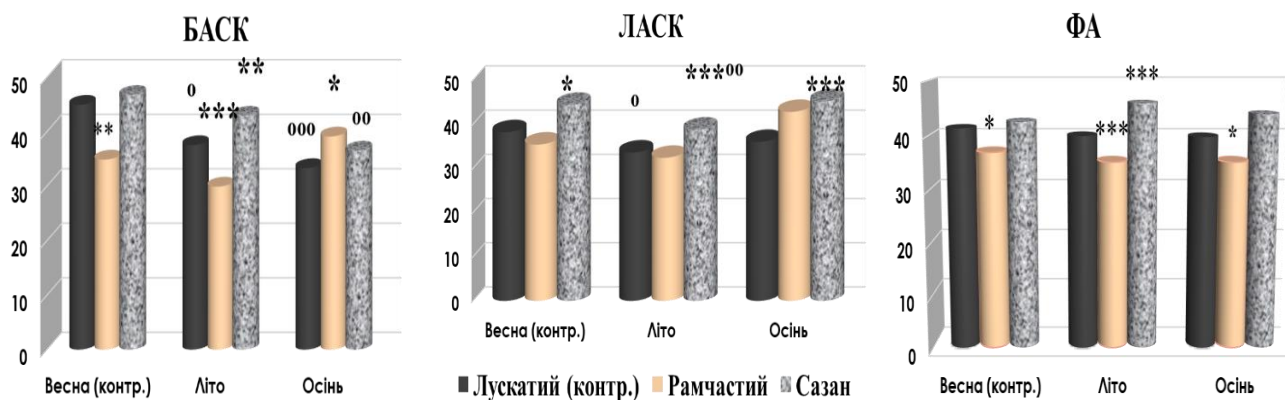


Рис. 4. Сезонна динаміка гуморальних і клітинних факторів природної резистентності риб, %.

Аналіз наведених на рис. 4 даних підтвердив вищу лізоцимну активність у крові сазанів у літній та осінній періоди їх вирощування, порівняно з лускатими коропами, відповідно на 5,2 і 9,2 % ($p<0,001$).

Вміст циркулюючих імунних комплексів характеризує антигенне навантаження на організм і ступінь синтезу антитіл в організмі. Констатовано зменшення ($p<0,05$) вмісту ЦІК у лускатих коропів у літній період і збільшення ($p<0,01$) у рамчастих коропів у осінній період досліджень порівняно з весняним.

Водночас зафіксовано більший вміст циркулюючих імунних комплексів у крові сазанів у літній період, ніж у лускатих коропів ($p < 0,05$).

При дослідженні показників клітинної ланки природної резистентності організму корокових риб виявлено значно нижчу фагоцитарну активність гранулоцитів крові у рамчастих коропів порівняно з лускатими у всі періоди досліджень та у сазанів у літній період ($p < 0,05 - 0,001$).

Вплив сезонних чинників на клітинну ланку неспецифічної резистентності організму корокових риб виражений меншою мірою, ніж гуморальних, про що свідчить відсутність вірогідних змін фагоцитарної активності гранулоцитів крові коропів у різні періоди досліджень.

Таким чином, результати проведених досліджень показали, що на стан природного й адаптивного імунітету корокових риб значною мірою впливають температурні фактори, вміст кисню у воді та зростання антигенного навантаження на їх організм. Констатовано значно вищий імунний потенціал у сазанів порівняно з лускатими і рамчастими коропами.

Біохімічні показники та стан клітинної і гуморальної ланок імунітету у коропа рамчастого і сазана за дії вітамінів А, D₃, Е, Цинку, Селену і Йоду. Дослідження показали, що згодовування у складі комбікорму комплексу жиророзчинних вітамінів, Цинку, Селену та Йоду зумовлювало зміни вмісту Цинку і Селену в органах і тканинах риб (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст Цинку та Селену в гепатопанкреасі та скелетних м'язах коропа рамчастого і сазана, мг/кг сирової маси ($M \pm m$, $n=4$).

Порода риб	Контроль	Дослід
Вміст Цинку (Zn) в гепатопанкреасі		
Рамчастий короп	48,98±0,1	73,87±0,7***
Сазан	51,92±0,64	77,93±0,84***
Вміст Цинку (Zn) в м'язах		
Рамчастий короп	3,92±0,07	4,65±0,10**
Сазан	4,03±0,06	5,06±0,09***
Вміст Селену (Se) в гепатопанкреасі		
Рамчастий короп	0,23±0,01	0,34±0,01**
Сазан	0,29±0,01	0,43±0,01**
Вміст Селену (Se) в м'язах		
Рамчастий короп	0,043±0,001	0,056±0,001**
Сазан	0,045±0,001	0,055±0,001**

Примітка. Тут і далі різниці вірогідні порівняно з показниками у риб контрольної групи (*— $p < 0,05$; **— $p < 0,01$; ***— $p < 0,001$)

Зокрема, з наведених у табл. 1 даних бачимо, що вміст Цинку та Селену нагромаджувався більшою мірою у гепатопанкреасі, ніж у скелетних м'язах корокових риб. Так, вміст Цинку в гепатопанкреасі і скелетних м'язах у коропа рамчастого та сазана був відповідно в 1,5 і 1,2 разу та в 1,5 і 1,3 разу більший, ніж аналогічні показники в особин контрольної групи. Подібні зміни, тільки виражені меншою мірою, зафіксовано при дослідженні вмісту Селену. Зокрема, у коропа

рамчастого і сазана вміст Селену у гепатопанкреасі та м'язах у 1,5 і 1,3 разу та 1,5 і 1,2 разу більший, ніж у особин контрольної групи відповідно.

Отримані результати свідчать, що застосування у складі вітамінно-мінеральної добавки до комбікорму вітамінів А, D₃, Е, Цинку, Селену і Йоду сприяло зростанню вмісту Цинку та Селену.

Підвищення вмісту Цинку та Селену у гепатопанкреасі і скелетних м'язах у коропа рамчастого та сазана викликало зміни активності основних антиоксидантних ензимів (табл. 2). Так, зареєстровано підвищення в 1,3 разу СОД та в 1,3 разу ГП активності у гепатопанкреасі сазанів і в 1,2 разу — у рамчастих коропів.

При цьому зафіксовано зростання, більш ніж удвічі, каталазної активності в гемолізатах еритроцитів як рамчастих коропів, так і сазанів. Водночас слід зауважити, що, як і в попередніх випадках, ці зміни були виражені більшою мірою у сазанів, ніж у рамчастих коропів. Це може вказувати на вищий потенціал антиоксидантного захисту у сазанів. Про це також свідчать вища в 1,4 і 1,2 разу ($p<0,05$) відповідно СОД і ГП активність у нирках сазанів і в 1,2 разу ($p<0,05$) ГП активність у нирках рамчастих коропів.

Водночас за дії вітамінно-мінерального комплексу збільшувався вміст відновленого глутатіону в гепатопанкреасі, нирках і скелетних м'язах досліджуваних коропових риб. Проте ці зміни були виражені більшою мірою у рамчастих коропів, ніж у сазанів, про що свідчить більший у 1,3 і 1,4 разу вміст відновленого глутатіону відповідно в нирках і скелетних м'язах рамчастих коропів ($p<0,05$).

Таблиця 2

Активність антиоксидантних ензимів у гепатопанкреасі та гемолізаті еритроцитів коропа рамчастого і сазана ($M\pm m; n=4$).

Порода риб	Група риб	Активність ензимів		
		СОД, у.о./г тк. (гепатопанкреас)	ГП, мкмоль GSH/г тк. хв. (гепатопанкреас)	КАТ (гемолізат еритроцитів), ммоль H ₂ O ₂ /мг білка / хв. x 10 ⁻⁷
Рамчастий короп	К	35,14±1,74	12,66±0,30	2,5±0,11
	Д	36,04±1,64	15,34±0,88*	5,29±0,4***
Сазан	К	28,32±1,64	12,53±0,71	3,21±0,48
	Д	36,98±1,64*	15,84±0,79*	7,41±0,9**

Примітка. Тут і в наступній таблиці К— контроль, Д— дослід.

За підвищення активності антиоксидантних ензимів відбулися зміни вмісту проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ у плазмі крові риб (табл. 3). Так, вміст ТБК-активних продуктів у плазмі крові сазанів зменшився в 1,3 разу, а вміст ГПЛ у коропа рамчастого і сазана зменшився відповідно на 7,8 і 6,7 % щодо контролю.

Таблиця 3

Вміст продуктів ПОЛ у плазмі крові коропа рамчастого і сазана за дії вітамінно-мінеральної добавки ($M \pm m$; $n=4$).

Показники	Група риб	Рамчастий короп	Сазан
ТБК-активних продуктів мкмоль/л	К	2,02±0,11	2,26±0,06
	Д	1,75±0,06	1,79±0,07**
ГПЛ, од.Е/мл	К	1,16±0,008	1,2±0,008
	Д	1,07±0,02**	1,12±0,01***

При дослідженні співвідношення окремих форм лейкоцитів у крові виявлено тенденцію до зростання кількості моноцитів і сегментоядерних нейтрофілів у риб дослідних груп щодо контрольної.

Зафіксовано також тенденцію до збільшення вмісту загального протеїну, кількості еритроцитів і гематокриту у крові риб дослідних груп порівняно з контролем. При цьому концентрація гемоглобіну у крові рамчастих коропів і сазанів була відповідно на 5,7 і 8,1 % ($p < 0,05$) більша, ніж у контролі.

Зареєстровано зміни активності специфічної ланки імунітету корошових риб за дії вітамінно-мінерального комплексу. Зокрема, констатовано більшу ($p < 0,05$) кількість Т-лімфоцитів (загальних і активних) у крові рамчастих коропів дослідної групи щодо контрольної. Ці зміни відбувались на тлі зменшення ($p < 0,05$) у крові кількості «нульових», функціонально недиференційованих лімфоцитів та збільшення кількості ТЕ- і ТА-РУЛ з низькою і середньою щільністю рецепторів.

Отже, застосування вітамінів А, D₃, Е і мікроелементів Селену, Цинку та Йоду більшою мірою впливає на функціональний стан імунокомпетентних клітин, особливо у рамчастих коропів, про що свідчить перерозподіл авідності у бік зміцнення рецепторного апарату плазматичних мембран Т-лімфоцитів.

При дослідженні показників, що характеризують гуморальну ланку неспецифічної резистентності організму корошових риб за дії досліджуваних вітамінів і мікроелементів (рис. 5), звертає на себе увагу вища порівняно з контролем бактерицидна активність сироватки крові у коропа рамчастого і сазана відповідно на 4,2 і 7,5 %.

Констатовано вищу на 9,6 % ($p < 0,05$), порівняно з контролем, лізоцимну активність сироватки крові у сазанів.

Введення вітамінно-мінерального комплексу зумовило зміни показників клітинної ланки неспецифічної резистентності організму риб дослідних груп. Зокрема, фагоцитарна активність гранулоцитів крові у коропа рамчастого і сазана підвищилася відповідно на 4,3 ($p < 0,05$) і 3,3 % ($p < 0,05$) щодо особин контрольної групи. При цьому у крові риб обох дослідних груп, порівняно з контрольними, зафіксовано зростання ($p < 0,05$) фагоцитарного числа.

Застосування корошу рамчастому та сазану у складі добавки до комбікорму жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду сприяє збільшенню маси тіла відповідно на 13,2 і 6,4 %, а довжини тіла — на 10,0 і 6,9 %, порівняно з контролем.

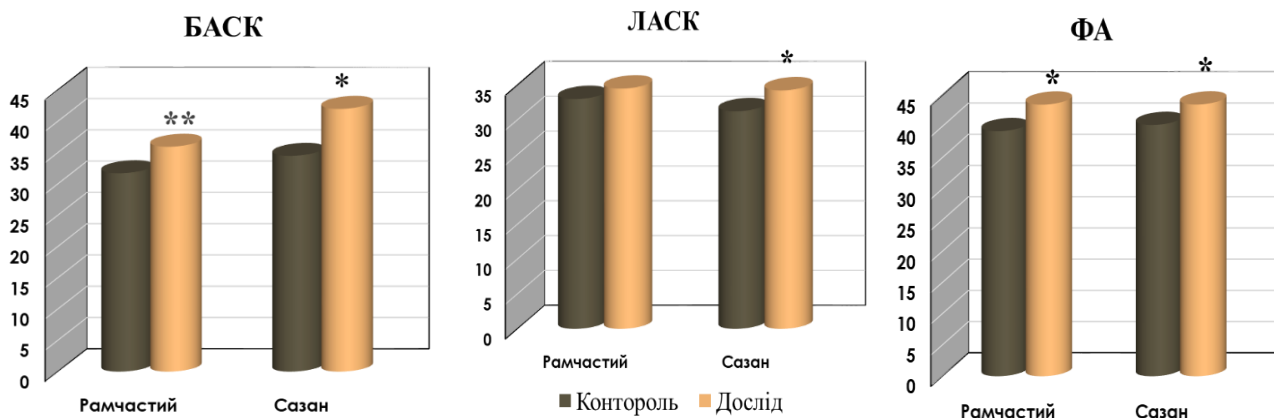


Рис. 5. Показники неспецифічної резистентності коропа рамчастого і сазана, %.

Отже, результати проведених досліджень показали, що згодовування риbam жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду у складі добавки до комбікорму виявляє стимулювальний вплив на активність клітинної та гуморальної ланок природної резистентності організму.

Загалом результати проведених досліджень свідчать, що застосування коропам жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку та Йоду у складі добавки до комбікорму позитивно впливає на гематологічні показники, знижує інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів, запобігає виснаженню системи антиоксидантного захисту, що позитивно впливає на імунний потенціал організму та продуктивність у коропа рамчастого і сазана.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі експериментально розв'язано наукове завдання щодо визначення породних і сезонних особливостей функціонування імунної й антиоксидантної систем у коропових риб і з'ясовано вплив жиророзчинних вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Цинку, Селену і Йоду на активність цих систем. Викладений у дисертації матеріал дає підстави для таких висновків.

1. Констатовано, що вміст проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ у плазмі крові лускатих і рамчастих коропів та сазанів у осінній період досліджень значно більший ($p < 0,01-0,001$), а вміст гідропероксидів ліпідів у літній період менший ($p < 0,001$), ніж у весняний. Вміст ТБК-активних продуктів у плазмі крові рамчастих коропів у весняний і осінній періоди та гідропероксидів ліпідів у осінній період менший ($p < 0,01-0,001$), ніж у лускатих коропів. Водночас у плазмі крові сазанів, порівняно з лускатими коропами, виявлено вірогідно більший ($p < 0,01-0,001$) вміст ТБК-активних продуктів у весняний і гідропероксидів ліпідів — у літній періоди досліджень.

2. У крові всіх досліджуваних порід в осінній період зафіксовано нижчу супероксиддисмутазну і глутатіонпероксидазну активність та вищу каталазну активність ($p < 0,01-0,001$), ніж у весняний. У крові сазанів і рамчастих коропів, порівняно з лускатими, констатовано вищу глутатіонпероксидазну і нижчу каталазну активність ($p < 0,05-0,001$). Водночас у рамчастих коропів зафіксовано вищу ($p < 0,05$) супероксиддисмутазну активність порівняно з лускатими у весняний період і нижчу ($p < 0,01$) — у сазанів у осінній період досліджень. У гемолізатах

еритроцитів корокових риб у літній та осінній періоди зафіксовано у 3-5 разів більший ($p < 0,001$) вміст відновленого глутатіону, ніж у весняний період.

3. Кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну, величина гематокриту та середня концентрація гемоглобіну в еритроциті у коропа лускатого, коропа рамчастого та сазана у літній і, особливо, в осінній період значно більша ($p < 0,05$ – $0,001$), ніж у весняний період. Кількість лімфоцитів у крові коропа лускатого, коропа рамчастого і сазана в осінній період досліджень була відповідно на 8,8 ($p < 0,001$), 5,1 ($p < 0,05$) і 8,1 % ($p < 0,01$) більша, а кількість моноцитів і сегментоядерних нейтрофілів у 2,0–4,1 разу ($p < 0,05$ – $0,001$) менша, ніж у весняний період. При цьому у крові рамчастих коропів у літній період кількість еозинофілів була більша ($p < 0,001$), ніж весною.

4. Виявлено збільшення ($p < 0,05$ – $0,001$) кількості Т-лімфоцитів (загальних, активних, теофілінчутливих і теофілінрезистентних) і зменшення ($p < 0,05$ – $0,001$) В-лімфоцитів у крові досліджуваних корокових риб у літній і, особливо, в осінній період досліджень порівняно з весняним. При цьому зафіксовано вірогідне підвищення функціональної активності Т-лімфоцитів крові за рахунок перерозподілу рецепторного апарату імунокомпетентних клітин (зменшення у крові кількості неактивних функціонально Т-лімфоцитів і збільшення клітин із низькою і середньою щільністю рецепторів). Зменшення кількості В-лімфоцитів у крові досліджуваних особин відбувалось за збільшення ($p < 0,01$ – $0,001$) «нульових» та низькоавідних ЕАС-РУЛ і зменшення ($p < 0,01$ – $0,001$) субпопуляції із середньою щільністю рецепторів. У рамчастих коропів і сазанів зафіксовано вищий потенціал клітинної ланки специфічної імунної відповіді щодо лускатих коропів.

5. Констатовано нижчий ($p < 0,01$ – $0,001$) рівень показників неспецифічної резистентності у лускатих коропів і сазанів у літній період дослідження, порівняно з весняним. У всі досліджувані періоди активність клітинних і гуморальних факторів природної резистентності в організмі сазанів була вищою ($p < 0,01$ – $0,001$), ніж у лускатих і рамчастих коропів. При цьому бактерицидна і лізоцимна активність сироватки крові, а також фагоцитарна активність гранулоцитів, фагоцитарне число та індекс у крові рамчастих коропів у весняний і літній періоди були меншим ($p < 0,05$ – $0,001$), ніж у вказані періоди досліджень у лускатих коропів. Зафіксовано більший вміст циркулюючих імунних комплексів у крові сазанів у літній період, порівняно з лускатими коропами ($p < 0,05$).

6. Згодовування риbam дослідних груп у кінці вегетаційного періоду впродовж тридцяти днів жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду у складі добавки до комбікорму сприяло зростанню ($p < 0,01$ – $0,001$) вмісту Цинку та Селену в гепатопанкреасі та скелетних м'язах коропа рамчастого і сазана і зниженню ($p < 0,01$ – $0,001$) у плазмі крові вмісту проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ. Водночас зафіксовано підвищення в 1,3 разу супероксиддисмутази ($p < 0,05$) і глутатіонпероксидазної активності в 1,3 разу ($p < 0,05$) у гепатопанкреасі сазанів і в 1,2 разу глутатіонпероксидазної активності у гепатопанкреасі рамчастих коропів ($p < 0,05$). При цьому констатовано підвищення вдвічі каталазної активності у гемолізатах еритроцитів як рамчастих коропів, так і сазанів ($p < 0,001$; $p < 0,01$) та збільшення в 1,3 і 1,4 разу вмісту відновленого глутатіону відповідно в нирках і скелетних м'язах рамчастих коропів ($p < 0,05$).

7. З'ясовано, що у крові рамчастих короїв і сазанів за дії вітамінів А, D₃, Е, Йоду, Цинку та Селену зростала концентрація гемоглобіну ($p < 0,05$), підвищувалася ($p < 0,05-0,01$) фагоцитарна, лізоцимна і бактерицидна активність крові. Цей вплив був виражений більшою мірою у сазанів, ніж у рамчастих короїв.

8. Застосування жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку та Йоду у складі добавки до комбікорму викликало збільшення ($p < 0,05-0,001$) кількості Т-лімфоцитів крові (загальних і активних) і підвищення їх функціональної активності, особливо у рамчастих короїв. При цьому зафіксовано вірогідно меншу кількість теофілінрезистентних Т-лімфоцитів у крові сазанів. Підвищення функціональної активності Т-лімфоцитів у крові рамчастих короїв відбувалося за рахунок перерозподілу рецепторного апарату імунокомпетентних клітин, зокрема, зменшення ($p < 0,05-0,001$) у крові кількості функціонально неактивних Т-лімфоцитів і збільшення ($p < 0,05-0,001$) субпопуляції клітин із низькою і середньою щільністю рецепторів.

9. Застосування корою рамчастому та сазану у складі добавки до комбікорму жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду сприяє збільшенню маси тіла відповідно на 13,2 і 6,4 %, а довжини тіла — на 10,0 і 6,9 %, порівняно з контролем.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

З метою підвищення імунного потенціалу й антиоксидантного захисту та росту короїв риб в кінці вегетаційного періоду впродовж місяця рекомендується застосовувати вітамінно-мінеральну добавку згідно розроблених методичних рекомендацій.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

Статті в наукових фахових виданнях України:

1. Руденко О. П., Віщур О. І. Сезонні та видові особливості гематологічного профілю у ставових риб. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С. З. Гжицького*. Львів, 2015. Т. 17, № 3. С. 98–102. (Дисертантка провела експериментальні дослідження, статистично опрацювала отримані дані, написала статтю).

2. Руденко О. П., Віщур О. І., Коваленко В. Л. Видові та сезонні особливості неспецифічної резистентності короїв риб. *Ветеринарна біотехнологія*. Київ, 2016. Вип. 28. С. 241–246. (Дисертантка провела аналіз та дослідження показників, що характеризують клітинну й гуморальну ланки неспецифічної резистентності короїв риб, систематизацію та узагальнення даних літератури, написала статтю).

3. Руденко О. П., Віщур О. І. Сезонні та породні особливості пероксидних процесів і активність ензимів системи антиоксидантного захисту у короїв риб. *Біологія тварин*. Львів, 2016. Т. 18, № 4. С. 72–77. (Дисертантка провела експериментальні дослідження, статистично опрацювала отримані дані, написала статтю).

4. Руденко О. П., Віщур О. І. Сезонні особливості лейкоцитарного профілю крові короїв риб. *Вісник СНАУ*. Суми, 2017. Вип. 11(41). 2017. С. 15–19.

(Дисертантка провела експериментальні дослідження, статистично опрацювала отримані дані, написала статтю).

5. Руденко О. П. Гематологічні показники корокових риб та сазана за впливу вітамінно-мінеральної добавки. *Вісник ДДАЕУ*. Дніпро, 2017. №1(43). С.118–121

6. Руденко О. П., Віщур О. І. Стан природних механізмів захисту у коропа і сазана за дії вітамінно-мінерального комплексу. *Наукові доповіді НУБіП України*. 2017. № 2. – Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nd_2017_2_23. (Дисертантка провела експериментальні дослідження, статистично опрацювала отримані дані написала статтю).

Патент України на корисну модель

7. Спосіб підвищення імунного потенціалу та продуктивності корокових риб : декл. пат. на корис. модель № 124321, Україна / Віщур О. І., Руденко О. П., Гутий Б. В. № u201705536 ; заявл. 06.06.2017 ; опубл. 10.04.2018, Бюл. № 7. (Дисертант брала участь у проведенні дослідів, оформленні патенту)

Методичні рекомендації

8. Ефективність застосування вітамінно-мінеральної добавки у раціоні корокових риб : науково-практичні рекомендації / Смолянinov К. Б., Масюк М. Б., Руденко О. П., Забитівський Ю. М., Віщур О. І. протокол № 9 від 16.12.2015 р. Львів : ТЗОВ «Смарт Систем ЛТД» 2018. 19 с. (Дисертантка брала участь в аналізі літературних даних та власних досліджень, їх інтерпретації та написанні рекомендацій).

Публікації, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

Тези та матеріали конференцій:

9. Руденко О. П. Сезонна динаміка та видові особливості гематологічного профілю у ставових риб. *Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини : матеріали XIII Всеукр. наук.-практ. конф. (м. Львів, 5–6 груд. 2014 р.)*. Львів, 2014. С. 206.

10. Руденко О. П., Віщур О. І. Видові та сезонні особливості неспецифічної резистентності корокових риб. *Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини : матеріали міжнар. наук.-практ. конф. (Львів, 2–3 жовт. 2015 р.)* Львів, 2015. С. 202. (Здобувачки узагальнила матеріали, підготувала тези до друку).

11. Руденко О. П., Віщур О. І., Соловодзінська І. Є. Імунний статус коропа і сазана під час річного циклу вирощування. *Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини : матеріали міжнар. наук.-практ. конф. (м. Львів, 29–30 верес. 2016 р.)* Львів, 2016. С. 181. (Здобувачка узагальнила матеріали, підготувала тези до друку).

12. Руденко О. П. Стан неспецифічної резистентності організму коропа рамчастого та сазана за дії вітамінно-мінеральної добавки. *Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини : матеріали XV Всеукр. наук.-практ. конф. (м. Львів, 8–9 груд. 2016 р.)* Львів, 2016. С. 182.

13. Rudenko O. P., Matiukha I. O., Vishchur O. I. Oxidative stress biomarkers and antioxidant defense in the blood and tissues of female carp under vitamins and minerals supplementation. *Nauki przyrodnicze we współczesnym świecie. mater* (2 czerwca

2017 r.). 2017. Р. 149. (Здобувачка узагальнила матеріали, підготувала тези до друку)

14. Руденко О. П., Віщур О. І. Природна резистентність коропа і сазана за дії вітамінно-мінеральної добавки. *Сучасні проблеми біології, екології та хімії : матеріали V міжнар. наук.-практ. конф. (м. Запоріжжя, 26–28 квіт. 2017 р.)*. Запоріжжя: Тандем, 2017. С. 174. (Здобувачка узагальнила матеріали, підготувала тези до друку).

15. Руденко О. П. Гематологічний профіль крові риб за дії вітамінно-мінеральної добавки. *Аграрна наука та освіта Поділля : матеріали міжнар. наук.-практ. конф. (Кам'янець-Подільський, 14–16 берез. 2017 р.)*. Кам'янець-Подільський, 2017. С. 146–148.

16. Руденко О. П., Віщур О. І. Сезонна динаміка Т– і В–лімфоцитів крові коропових риб. *Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини : матеріали XVI Всеукр. наук.–практ. конф. (м. Львів, 8–9 груд. 2017 р.)*. Львів, 2017. С. 127. (Здобувачка узагальнила матеріали, підготувала тези до друку).

АНОТАЦІЇ

Руденко О. П. Сезонні особливості та фактори регуляції імунного потенціалу й антиоксидантного захисту у коропових риб. — Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія. – Інститут біології тварин НААН, Львів, 2018.

Дисертаційна робота присвячена вивченню впливу сезонних чинників, а також жиророзчинних вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Цинку, Селену і Йоду на гематологічний профіль, стан імунної й антиоксидантної систем у коропових риб.

Дослідження впливу сезонних чинників на активність імунної й антиоксидантної систем у коропових риб показали, що вміст проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ у плазмі крові лускатих та рамчастих коропів і сазанів в осінній період значно більший, а вміст гідропероксидів ліпідів у літній період менший, ніж у весняний. У рамчастих коропів і сазанів зафіксовано вищий потенціал клітинної ланки специфічного імунітету. Констатовано нижчий рівень показників неспецифічної резистентності у лускатих коропів і сазанів у літній період порівняно з весняним.

Експериментально підтверджено ефективність застосування жиророзчинних вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Цинку, Селену та Йоду у складі біологічно активної добавки до раціону коропа рамчастого та сазана в кінці вегетаційного періоду на інтенсивність процесів ПОЛ, активність системи антиоксидантного захисту, показники природного та адаптивного імунітету. За дії вітамінно-мінерального комплексу констатовано зростання вмісту Цинку й Селену в гепатопанкреасі та м'язах коропа рамчастого і сазана.

Ключові слова: короп, лейкоцити, гемоглобін, антиоксидантна система, імунна система, жиророзчинні вітаміни, мікроелементи.

Руденко О. П. Сезонные особенности и факторы регуляции иммунного потенциала и антиоксидантной защиты у карповых рыб. — Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 03.00.04 – биохимия. – Институт биологии животных НААН, Львов, 2018.

Диссертационная работа посвящена изучению влияния сезонных факторов, а также жирорастворимых витаминов А, D₃, Е и микроэлементов Цинка, Селена и Йода на гематологический профиль, состояние иммунной и антиоксидантной систем у карповых рыб.

Исследования влияния сезонных факторов на активность иммунной и антиоксидантной систем у карпа чешуйчатого, карпа рамчатого и сазана показали, что содержание промежуточных и конечных продуктов ПОЛ в плазме крови чешуйчатых и рамчатых карпов и сазанов в осенний период значительно больше, а содержание гидроперекисей липидов в летний период меньше, чем в весенний. В рамчатых карпов и сазанов зафиксирован высокий потенциал клеточного звена специфического иммунитета. Констатирован низкий уровень показателей неспецифической резистентности у чешуйчатых карпов и сазанов в летний период исследований по сравнению с весенним.

Экспериментально подтверждена эффективность применения жирорастворимых витаминов А, D₃, Е и микроэлементов Цинка, Селена и Йода в составе биологически активной добавки к рациону карпа рамчатого и сазана в конце вегетационного периода на интенсивность процессов ПОЛ, активность системы антиоксидантной защиты, показатели естественного и адаптивного иммунитета.

При действии витаминно-минерального комплекса констатировано повышение содержания Цинка и Селена в печени и мышцах карпа рамчатого и сазана.

Ключевые слова: карп, лейкоциты, гемоглобин, антиоксидантная система, иммунная система, жирорастворимые витамины, микроэлементы.

Rudenko O. P. Seasonal features and factors of regulation of immune potential and antioxidant protection in carp fish. - The manuscript.

Thesis for candidate degree of veterinary sciences by specialty 03.00.04 – Biochemistry. – Institute of Animal Biology, NAAS, Lviv, 2018.

The dissertation is devoted to the study of the influence of seasonal factors, as well as fat soluble vitamins A, D₃, E, and trace elements of Zinc, Selenium and Iodine on the hematological profile, the state of immune and antioxidant systems in different breeds of carp fish.

At the first part of the dissertation work the influence of seasonal factors on the activity of immune and antioxidant systems in different breeds of carp fish was studied. Studies have shown that the content of intermediate and final products of lipid peroxidation in the blood plasma of scaly, naked and wild carp in the autumn period is much higher, and the content of lipid hydroperoxides in summer period – is lower than in the spring period. In these fishes, in the autumn period of studies, compared with spring, observed the lower superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity and higher

catalase activity ($p < 0.01-0.001$). In the blood of wild and naked carps, compared with the scale carps, higher glutathione peroxidase and lower catalase activity were noted ($p < 0.05-0.001$). It is shown that the function of system of antioxidant defense in the blood of carp fish featured a seasonal change in its activity, which is an expression of the adaptive mechanism of the organism of fish to the oxygen regime of the reservoir, decrease in the intensity of feed intake and changes in the initial oxidation substrates. According to the data, these processes in carp fish depend on a large extent of the genetic characteristics of the studied breeds. The number of erythrocytes, hemoglobin content, the amount of hematocrit and the average concentration of hemoglobin in erythrocyte in naked, scaly and wild carp in the summer and especially in the autumn were greater than in the spring. In naked and wild carps, the higher potential of the cellular link of a specific immune response was discovered. The lower level of indices of non-specific resistance in scaly carps and wild carps in the summer and autumn periods of the study, as compared to spring, was stated.

In general, studies carried out at this stage have shown that the state of the immune potential and the antioxidant protection of the organism of the investigated breeds of carp fish largely depends on the influence of seasonal factors and genetic characteristics. Significantly higher indicators of natural and adaptive immunity and antioxidant potential in wild carps are found in comparison with the scale and naked carps.

At the second part of research, the effectiveness of the use of fat-soluble vitamins A, D₃, E and trace elements Zinc, Selenium and Iodine in the composition of the biologically active additive to the diet of scaled and wild carp at the end of the vegetative period on the intensity of the lipid peroxidation processes, the activity of antioxidant system, indicators of natural and adaptive immunity has been experimentally confirmed. The decrease in the blood plasma of fish, the content of intermediate and final products of peroxide oxidation of lipids, increased phagocytic, lysozyme and bactericidal activity have been shown.

The action of the vitamin-mineral complex showed an increase in the content of zinc and selenium in the liver and muscles of carp and wild carp, and a decrease in the blood plasma content of intermediate and final products of lipid peroxidation, increased activity of the antioxidant enzyme chain of system.

The use of fat-soluble vitamins A, D₃, E and trace elements zinc, selenium, and iodine caused an increase in hemoglobin concentration, the number of red blood cells, monocytes and segmental neutrophils and a decrease in the number of leukocytes and lymphocytes in their blood, which positively influenced the oxygen transport and immune blood function, especially in wild carps. An increase in the number of T-lymphocytes in the blood (general and active) and increasing of their functional activity, especially in wild carps, was established.

In general, the results of the conducted research showed that the use of zinc-soluble vitamins and trace elements Selenium, Zinc and Iodine in carp feed additive reduces the intensity of peroxide oxidation of lipids, increases the activity of the antioxidant system, promotes the growth of immune potential and productivity in carp and wild carp. This effect was expressed more in the body of wild carps than in naked carp.

Key words: carp, leukocytes, hemoglobin, antioxidant system, immune system, fat-soluble vitamins, trace elements.