

**ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ**

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

РУДЕНКО ОЛЬГА ПЕТРІВНА

УДК 550.385.2;612.017;678.048; 639.21:597.551.2

ДИСЕРТАЦІЯ

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

03.00.04 – біохімія

ветеринарні науки

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук

Дисертація містить результати власних досліджень.

Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на
відповідне джерело _____ О. П. Руденко

Науковий керівник – **Віщур Олег Іванович**, доктор ветеринарних наук, професор

Львів – 2018

АНОТАЦІЯ

Руденко О. П.— Сезонні особливості та фактори регуляції імунного потенціалу та антиоксидантного захисту у коропових риб. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

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

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 у різних порід коропових риб.

Експериментальні дослідження проведені в Інституті біології тварин НААН і Львівській дослідній станції Інституту рибного господарства НААН упродовж 2014–2017 рр.

На першому етапі дисертаційної роботи з'ясовували вплив сезонних чинників на активність імунної й антиоксидантної систем у коропових риб. Дослідження проводилися на трьох групах риб дворічного віку. Короп лускатий і рамчастий вирощувались суміжно в одному ставі, а сазан — окремо, у розміщеному поруч. Матеріалом для дослідження слугувала кров, яку брали із серця риби у різні пори року: весною (травень), літом (серпень) і осінню (жовтень) після проведення метакаїнового наркозу.

Проведені дослідження показали, що вміст проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ у плазмі крові лускатих та рамчастих коропів і сазанів в осінній період значно більший ($p < 0,01$ – $0,001$), а вміст гідроперекисів ліпідів у літній – менший ($p < 0,001$), ніж у весняний період досліджень. При цьому у крові в усіх порід риби в осінній період досліджень, порівняно до весняного зафіксовано нижчу супероксиддисмутазну і глутатіонпероксидазну та вищу каталазну активність ($p < 0,01$ – $0,001$), що свідчить про залежність інтенсивності пероксидних процесів в

організмі риб від сезонних факторів та активності ензимів системи антиоксидантного захисту.

Дослідження породних особливостей пероксидних процесів у риб показали, що 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 до лускатих коропів, виявлено вірогідно більший вміст ТБК-активних продуктів у весняний і гідропероксидів ліпідів — у літній періоди досліджень.

Отже, результати проведених досліджень показали, що особливістю функціонування САЗ у крові коропових риб є сезонна зміна у її активності, що є проявом адаптаційного механізму організму риб до кисневого режиму водойми, зниження кормової активності та зміни вихідних субстратів окиснення. Водночас, як свідчать отримані дані, ці процеси у досліджуваних коропових риб значною мірою залежать також від генетичних характеристик.

При дослідженні гематологічних показників звертає на себе увагу те, що кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну, величина гематокриту та середня концентрація гемоглобіну в еритроциті у крові коропа лускатого, коропа рамчастого та сазана у літній період і, особливо, в осінній значно більша ($p < 0,05-0,001$), ніж у весняний період. При цьому не зафіксовано істотних породних відмінностей гематологічного профілю у коропових риб в усі досліджувані періоди.

У коропа рамчастого, коропа лускатого і сазана кількість лімфоцитів у крові в осінній період була більша, а кількість моноцитів і сегментоядерних нейтрофілів — менша ($p < 0,05-0,001$), ніж у весняний період досліджень. При цьому у крові рамчастих коропів у літній період кількість еозинофілів більша ($p < 0,001$), ніж весною. Породні особливості у вказаних особин були виражені меншою мірою.

Констатовано збільшення ($p < 0,05-0,001$) кількості Т-лімфоцитів (загальних, активних, теофілін-чутливих і теофілін-резистентних) і зменшення ($p < 0,05-0,001$) В-лімфоцитів у крові досліджуваних риб у літній і, особливо осінній період досліджень, порівняно до весняного. При цьому зафіксовано вірогідне підвищення

функціональної активності Т-лімфоцитів крові за рахунок перерозподілу рецепторного апарату імунокомпетентних клітин (зменшення у крові кількості неактивних у функціональному відношенні Т-лімфоцитів і збільшення клітин із низькою і середньою щільністю рецепторів).

В усі досліджувані періоди активність клітинних і гуморальних факторів природної резистентності (показники фагоцитозу, бактерицидна і лізоцимна активність сироватки крові, вміст циркулюючих імунних комплексів) у сазанів були вищими ($p < 0,05$ – $0,001$), ніж у лускатих і рамчастих коропів.

У цілому, проведені на цьому етапі дослідження показали, що стан імунного потенціалу та антиоксидантного захисту організму досліджуваних порід коропових риб значною мірою залежить від впливу сезонних чинників і генетичних характеристик. Констатовано значно вищі показники природного та адаптивного імунітету й антиоксидантного потенціалу у сазанів порівняно до лускатих і рамчастих коропів.

На другому етапі дисертаційної роботи з'ясовували вплив комплексної дії жиророзчинних вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Цинку, Селену та Йоду у складі біологічно активної добавки до раціону на інтенсивність окисних процесів, активність системи антиоксидантного захисту, стан клітинних і гуморальних механізмів неспецифічної резистентності та адаптивної здатності у коропа рамчастого і сазана в кінці вегетаційного періоду.

Дослід проведено в осінній період на двох групах риб (короп рамчастий і сазан), дворічного віку, які за принципом аналогів були розділені на дві контрольні та дві дослідні групи по 10 особин. Риб утримували в спеціальних лотках за умов постійної замкненої системи циркуляції води. Риbam контрольних груп упродовж 30-ти діб згодовували гранульований комбікорм, особинам дослідних – аналогічний комбікорм з добавками препарату “Тривіт” у кількості 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. Матеріалом для дослідження слугувала кров, яку брали в кінці досліду із серця риб після проведення метакаїнового наркозу.

Дослідження показали, що застосування у складі біологічно активної добавки до комбікорму жиророзчинних вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Цинку, Селену і Йоду призводить до зростання вмісту Цинку та Селену у гепатопанкреасі і скелетних м'язах у коропа рамчастого та сазана. Збільшення вмісту Цинку та Селену в досліджуваних тканинах коропових риб викликало підвищення супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази активності у гепатопанкреасі і нирках сазанів та рамчастих коропів. Ці дані свідчать про стимулювальний вплив жиророзчинних вітамінів та мікроелементів, і особливо Селену та Цинку у складі біологічно активної добавки, на активність антиоксидантних ензимів в організмі коропових риб. Підвищення активності антиоксидантних ензимів спричинило зниження ($p < 0,05$) вмісту проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ у м'язах рамчастих коропів і сазанів та у плазмі крові сазанів.

Застосування у складі комбікорму добавки жиророзчинних вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Цинку, Селену і Йоду викликало збільшення концентрації гемоглобіну, кількості еритроцитів, моноцитів і сегментоядерних нейтрофілів та зменшення кількості лейкоцитів і лімфоцитів у їх крові, що позитивно впливало на киснево-транспортну та імунну функції крові, особливо в сазанів.

За дії жиророзчинних вітамінів А, D₃, Е і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду у складі добавки до комбікорму риб констатовано підвищення активності клітинної та гуморальної ланок природної резистентності організму коропа і сазана. Про це свідчить вища ($p < 0,05-0,01$) фагоцитарна, лізоцимна і бактерицидна активність крові риб дослідних груп порівняно до контролю. Цей вплив був виражений більшою мірою в організмі сазанів, ніж у рамчастих коропів.

При дослідженні клітинної ланки специфічної імунної відповіді констатовано стимулювальний вплив вітамінно-мінеральної добавки на загальну кількість Т-лімфоцитів крові рамчастих коропів. Ці зміни відбувалися на тлі зменшення у крові рамчастих коропів кількості «нульових», функціонально недиференційованих лімфоцитів і збільшення кількості ТЕ-РУЛ з низькою і середньою щільністю рецепторів. Подібні результати, тільки виражені меншою

мірою, отримані нами при дослідженні кількості «активних» Т-лімфоцитів крові. При цьому досліджувані чинники у складі добавки до комбікорму короїв суттєво не впливали на кількість ефєкторних Т-лімфоцитів і функціональну активність антиген-незалежних В-лімфоцитів крові.

В цілому результати проведених досліджень показали, що застосування короам жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду у складі добавки до комбікорму позитивно впливає на киснево-транспортну функцію крові, знижує інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів, підвищує активність системи антиоксидантного захисту, сприяє зростанню імунного потенціалу та продуктивності у короа рамчастого та сазана. Цей вплив був виражений більшою мірою в організмі сазанів, ніж у рамчастих короїв.

Наукова новизна. Уперше здійснено комплексну характеристику гематологічного профілю, стану природного й адаптивного імунітету, процесів ПОЛ, активності САЗ у різних порід короєвих 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 короа рамчастого, короа лускатого та сазана за впливу сезонних чинників.

Доведено і проаналізовано функціональний зв'язок між вмістом Селену та Цинку в органах і тканинах короа 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 короєвих риб» (від 06.06.2017 р.).

Практичне значення. 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. Ґжицького. Рекомендовано для введення у навчальні програми низки дисциплін на ветеринарних та біологічних факультетах вищих навчальних закладів третього і четвертого рівнів акредитації.

Ключові слова: коропові риби, гематологічні показники, сазан, короп лускатий, короп рамчастий, імунологічні показники, лейкоцити, гемоглобін, антиоксидантна система, жиророзчинні вітаміни, мікроелементи, приріст.

ABSTRACT

Rudenko O. P. — Seasonal features and factors of regulation of immune potential and antioxidant protection in carp fish. Qualification scientific work on the rights of a manuscript.

Thesis for a candidate degree in veterinary sciences, specialty 03.00.04 — biochemistry. — Institute of Animal Biology, National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv, 2018.

The aim of the dissertation work was to discover the influence of seasonal factors, as well as fat-soluble vitamins A, D₃, E and trace elements zinc, selenium and iodine on the hematological profile, the status of the immune and antioxidant systems in different breeds of carp fish.

Experimental studies were conducted at the Institute of Animal Biology NAAS and the Lviv Research Station of the Institute of Fisheries of the NAAS during 2014-2017.

At the first stage of the dissertation work the effect of seasonal factors on the activity of immune and antioxidant systems in carp fish was studied. The studies were conducted in three groups of two-year-old fish. Scaly and naked carp were grown up in one pond,

and wild carp – separately and nearby. The material used for the study was the blood taken from the heart of fish in different seasons: spring (May), summer (August) and autumn (October) after metacain anesthesia.

The studies showed that the content of intermediate and final products of lipid peroxidation in blood plasma of scaly and naked carps and wild carps in the autumn period is significantly higher ($p < 0.01-0.001$), while the content of lipid hydroperoxides in summer is less ($p < 0.001$) than in the spring period of research. At the same time, in the blood of all breeds of fish in the autumn period of studies, in comparison with spring, lower superoxide dismutase and glutathione peroxidase and higher catalase activity ($p < 0.01-0.001$) were observed, indicating the dependence of the intensity of peroxid processes in the organism of fish on seasonal factors and the activity enzymes of antioxidant defense system.

Investigation of the breed peculiarities of peroxide processes in fishes showed that the content of TBA-active products in the plasma of naked carp in the summer and autumn periods and lipid hydroperoxides in the autumn period was lower ($p < 0.01-0.001$) than in scaly carps. At the same time, in the plasma of wild carp, compared with scaly carp, a significantly higher content of TBA-active products in spring and lipids hydroperoxides was found — in the summer research period.

Thus, the results of the research showed that the feature of the functioning of antioxidant defense in the blood of carp fish has a seasonal character in its activity, which is an expression of the adaptive mechanism of the organism of fish to the oxygen regime of the reservoir, reduction of fodder activity and change of the initial substrate oxidation. At the same time, the data suggest that, these processes in the investigated carp fish also to a large extent also depend on genetic characteristics.

In the study of hematological parameters shows that the number of erythrocytes, hemoglobin content, the amount of hematocrit and the average concentration of hemoglobin in erythrocyte in the blood of all carps in the summer and especially in autumn is much higher ($p < 0.05-0.001$) than in the spring period. At the same time, there were no significant genetic differences in the hematological profile of carp fish in all investigated periods.

The number of lymphocytes in all carps in the autumn period was larger and the number of monocytes and segmental neutrophils was lower ($p < 0.05-0.001$) than in the spring period of the research. At the same time, in the blood of naked carps in the summer the number of eosinophils is higher ($p < 0.001$) than in spring. The breed peculiarities of these individuals were expressed to a lesser degree.

An increase ($p < 0.05-0.001$) of T-lymphocytes (total, active, theophylline-sensitive and theophylline-resistant) and a decrease ($p < 0.05-0.001$) of B-lymphocytes in the blood of investigated fish in the summer and, especially the autumn period of research, compared with spring has been stated. In this case, a possible increase in the functional activity of blood T-lymphocytes was observed due to the redistribution of the receptor apparatus of the immunocompetent cells (a decrease in the number of T-lymphocytes inactive in function and an increase in cells with low and average receptor density).

In all investigated periods, the activity of cellular and humoral factors of natural resistance (phagocytosis, bactericidal and lysozyme activity of blood serum, the content of circulating immune complexes) in wild carps was higher ($p < 0.05-0.001$) than in the scaly and naked carp.

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 scaly and naked carp.

At the second stage of the dissertation work the effect of the complex action of fat-soluble vitamins A, D₃, E and trace elements Zinc, Selenium and Iodine as the biologically active additive to the diet on the intensity of oxidative processes, the activity of the antioxidant defense system, the state of cellular and humoral mechanisms of nonspecific resistance and adaptive ability in naked carp and wild carp at the end of the growing season has been investigated.

The experiment was carried out in the autumn period on two groups of fish (naked carp and wild carp), two years old, which, by analogy, were divided into two control and two experimental groups of 10 individuals. Fish were kept in special trays under constant

closed water circulation system. The control group's fish for 30 days were fed granular feed, experimental animals — a similar feed with additives of the drug "Trivit" in the amount of 2500 IU of vitamin A, 3333 IU of vitamin D₃, 1.7 mg of vitamin E, and also of 5 mg / kg of potassium iodine , 40 mg / kg zinc sulfate and 0.3 mg / kg sodium selenite. The material used for the study was blood, which was taken at the end of the experiment from the heart of fish after metacaine anesthesia.

Studies have shown that the use of fat-soluble vitamins A, D₃, E, and Zinc, Selenium and Iodine as a biologically active additive increases the content of zinc and selenium in the hepatopancreas and skeletal muscle of naked carp and wild carp. An increase in Zinc and Selenium tissue level caused the increased superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity in the hepatopancreas and kidneys of wild carps and naked carps. These data indicate the stimulatory effect of fat-soluble vitamins and trace elements, and especially Selenium and Zinc, as part of a biologically active additive, on the activity of antioxidant enzymes in the organism of carp fish. The increase in the activity of antioxidant enzymes caused a decrease ($p < 0.05$) in the content of intermediate and final products of lipid peroxidation in the muscles of the naked carp and wild carp and in the blood plasma of wild carp.

The use of fat-soluble vitamins A, D₃, E and trace elements of Zinc, Selenium, and Iodine as a compound of additive 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 carp.

As a result of the action of fat soluble vitamins A, D₃, E and trace elements Selenium, Zinc and Iodine as a supplement to the mixed fodder of fish, an increase in the activity of cellular and humoral components of the natural resistance of the body of naked carp and wild carp has been noted. This is evidenced by higher ($p < 0.05-0.01$) phagocytic, lysozyme and bactericidal activity of blood of fish in experimental groups compared to control. This effect was expressed more in the body of wild carp.

In the study of the cellular link of a specific immune response, the stimulatory effect of vitamin-mineral supplements on the total number of T-lymphocytes of blood of naked

carp was established. These changes took place against the background of a decrease in the number of "zero", functionally undifferentiated lymphocytes and an increase in the number of total T-lymphocytes with low and medium receptor density. Similar results, only expressed to a lesser extent, were obtained in the study of the number of "active" T-lymphocytes in the blood. In this case, the investigated factors did not significantly affect the number of effector T-lymphocytes and the functional activity of antigen-independent blood B-lymphocytes.

In general, the results of the research showed that the use of fat-soluble vitamins and trace elements Selenium, Zinc and Iodine as the feed additive positively affects the oxygen-transport function of the blood, reduces the intensity of peroxide oxidation of lipids, increases the activity of the antioxidant system, promotes the growth of immune potential and performance in carp and wild carp. This effect was expressed more in the body of wild carp than in naked common carp.

Scientific novelty. For the first time, a complex characterization of the hematological profile, the state of natural and adaptive immunity, the processes of lipid peroxidation, the activity of antioxidant defense in different breeds of carp fish under the influence of seasonal factors and the action of fat soluble vitamins and trace elements Selenium, Zinc and Iodine in the composition of the additive to the feed.

For the first time in the conditions of experimental research, a comparative analysis of immune potential and antioxidant protection in the naked carp and wild carp under the influence of seasonal factors has been carried out.

The functional dependence between the content of Selenium and Zinc in the organs and tissues of carp and wild carp, and the intensity of lipid peroxidation, the activity of antioxidant enzymes and the immune potential of the investigated fish under the conditions of application of vitamins A, D₃, E, and of the elements of Zinc, selenium and iodine as the additives to feed has been established.

As a result of the dissertation work, a patent for utility model No. 124321 "**A way to improve the immune potential and productivity of carp fish**" (from 06.06.2017) was obtained.

Practical meaning. On the basis of theoretical generalizations and carried out researches, methodical recommendations were prepared and the vitamin-mineral supplement for fish was developed and introduced in practice with the purpose of increasing the adaptive capacity of the organism, increasing mass gain.

The results of the studies have an important theoretical significance regarding the biochemical and immunological processes that underlie the seasonal changes and the peculiarities of the metabolism of fish. The obtained data are used in the educational process at the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine and at the Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology by S. Z Gzhytsky. It is recommended for introduction into the curriculum of a number of disciplines at veterinary and biological faculties of higher educational institutions of the third and fourth accreditation levels.

Key words: carp fish, hematological parameters, naked carp, scaly carp, wild carp, immunological parameters, leukocytes, hemoglobin, antioxidant system, fat-soluble vitamins, trace elements, growth.

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 корошових риб. *Ветеринарна біотехнологія*. Київ, 2016. Вип. 28. С. 241–246. *(Дисертантка провела аналіз та дослідження показників, що характеризують клітинну й гуморальну ланки неспецифічної резистентності корошових 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 корошових 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 корошових 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 корошових 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 / Смолянінов 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. P. 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).

ЗМІСТ

С.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	18
ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	
1.1. Вплив сезонних факторів на антиоксидантний захист і стан природного та адаптивного імунітету корокових риб.....	25
1.1.1. Породні особливості та інтенсивність пероксидних процесів і стан системи антиоксидантного захисту в організмі риб за впливу сезонних факторів.....	25
1.1.2. Гематологічні параметри риб за впливу сезонних факторів.....	29
1.1.3. Стан природного та адаптивного імунного захисту в організмі риб за дії сезонних чинників.....	31
1.2. Вплив вітамінів А, D ₃ , Е та мікроелементів Zn, Se, І на антиоксидантний і імунний захист та ріст і збереженість коропів.....	35
1.2.1. Вплив вітамінів А, D ₃ , Е та мікроелементів Zn, Se, І на інтенсивність ПОЛ, активність САЗ, функціональний стан клітинної і гуморальної ланок імунітету риб.....	35
1.2.2. Вплив вітамінів А, D ₃ , Е та мікроелементів Zn, Se, І на ріст та збереженість коропів.....	43
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	
2.1. Методика та схеми проведення дослідів	46
2.2. Методи визначення імунологічних показників.....	49
2.3. Методи визначення біохімічних показників.....	56
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	
3.1. Сезонні особливості системи антиоксидантного захисту й імунного потенціалу у коропа рамчастого, коропа лускатого і сазана.....	64

3.1.1. Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів та активність ензимів системи антиоксидантного захисту у крові корокових риб за дії сезонних факторів.....	65
3.1.2. Вплив сезонних факторів на гематологічний профіль корокових риб.....	69
3.1.3. Вплив сезонних факторів на кількість та функціональну активність Т- і В-лімфоцитів крові риб.....	75
3.1.4. Вплив сезонних факторів на активність клітинної і гуморальної ланок неспецифічної резистентності корокових риб.....	84
3.2. Стан імунного та антиоксидантного захисту у корокових риб за дії вітамінів А, D ₃ , Е та Zn, Se, І	90
3.2.1. Вміст Цинку та Селену, активність ензимів системи антиоксидантного захисту й інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у корокових риб за дії вітамінів А, D ₃ , Е, та мікроелементів Цинку, Селену і Йоду у складі вітамінно-мінеральної добавки.	91
3.2.2. . Гематологічний профіль корокових риб за дії вітамінів А, D ₃ , Е та мікроелементів Цинку, Селену і Йоду.....	95
3.2.3. Стан клітинних факторів імунітету коропа та сазана за дії вітамінно-мінеральної добавки.	99
3.2.4. Стан гуморальної ланки імунної відповіді організму корокових риб за дії вітамінно-мінеральної добавки	105
3.2.5. Вплив жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду на ріст корокових риб.....	107
РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	110
ВИСНОВКИ.....	127
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ.....	130
ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА.....	131
ДОДАТКИ.....	161

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- АОС** — антиоксидантна система
- БАСК** — бактерицидна активність сироватки крові
- ВГ** — відновлений глутатіон
- ГПЛ** — гідропероксиди ліпідів
- ГПО** — глутатіонпероксидаза
- ЕАС-РУЛ** — розеткоутворюючі лімфоцити
- Е-РУЛ** — спонтанні розеткоутворюючі лімфоцити
- ІРІ** — імунорегуляторний індекс
- КЛ** — короп лускатий
- КР** — короп рамчастий
- ЛАСК** — лізоцимна активність сироватка крові
- ПОЛ** — пероксидне окиснення ліпідів
- С** — сазан
- СОД** — супероксиддисмутаза
- ТА-РУЛ** — Т-лімфоцити активні
- ТЕ-РУЛ** — Т-лімфоцити загальні
- Th** — теофілінрезистентні лімфоцити (хелпери)
- Ts** — теофілінчутливі лімфоцити (супресори)
- ФА** — фагоцитарна активність
- ФІ** — фагоцитарний індекс
- ФЧ** — фагоцитарне число

ВСТУП

Актуальність теми. Однією з найбільш актуальних проблем сучасного ставового рибиництва в Україні є зниження резистентності риб, що зумовлено негативною дією низки факторів: неповноцінною годівлею, антропогенною дією екологічних чинників, порушенням технологій їх 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 факторів. 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 їхньому організмі (Ekasari J., et al., 2014; Asar J., 2015). Цим зумовлена актуальність вивчення сезонної динаміки активності імунної й антиоксидантної систем у різних видів і порід ставових риб.

Проведені в останні роки дослідження свідчать про тісний зв'язок між активністю імунної й антиоксидантної систем в організмі тварин (Грициняк І. І., та ін., 2010; Особа І. А., 2010, Олексюк Н. П., 2010). Найбільш розповсюдженими породами ставових риб в Україні є короп і сазан, які різняться чутливістю до сезонних змін умов середовища, насамперед температури води і вмісту у 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). На сьогоднішній день нормативні значення жиророзчинних вітамінів добре вивчені у сільськогосподарських тварин. Проте, кількісна потреба в жиророзчинних вітамінах, і, особливо, мікроелементах Zn, Se, I, а також їх вплив на функцію імунної й антиоксидантної систем у риб вивчена 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. Для запобігання зниження функціональної активності системи антиоксидантного захисту (САЗ) та імунного потенціалу деякі дослідники пропонують додавати до корму природні або синтетичні антиоксиданти (Віщур О. І., 2012; Sharifzadeh at all., 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.

У зв'язку з цим, науково-практичний інтерес становить створення вітамінно-мінеральної добавки на основі жиророзчинних вітамінів та мікроелементів в оптимальній концентрації з високою ефективністю, поживною і фізіологічною цінністю та високим рівнем екологічної безпеки для підвищення імунного потенціалу й антиоксидантного захисту і адаптаційної здатності коропових риб.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано 2012-2017рр. згідно з тематичними планами наукових досліджень Інституту біології тварин НААН: НТ завдання 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 та пошукове завдання 33.00.00.16 «Дослідити стан імунної й антиоксидантної систем коропа і сазана за дії імунотропних засобів» №ДР 117U004897, у яких автор 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 у коропових риб.

Мета і завдання досліджень. 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 у коропа лускатого, коропа рамчастого і сазана.

Для досягнення поставленої мети у завдання дисертаційної роботи входили дослідження:

- вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і активність САЗ у крові дворічок рамчастого та лускатого коропів і сазана у весняний, літній та осінній періоди і за дії вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Цинку, Селену і Йоду у коропа рамчастого та сазана в кінці вегетаційного періоду;
- вмісту гемоглобіну, кількості еритроцитів, лейкоцитів та співвідношення їх окремих форм, Т- і В-лімфоцитів та їх функціональної активності у крові коропових риб у вказані періоди досліджень;
- активності Т- і В-систем імунітету в рецепторній і проліферативній фазах імунної відповіді та стану клітинної і гуморальної ланок неспецифічної резистентності у крові вказаних порід коропових риб за впливу сезонних чинників та за дії жиророзчинних вітамінів і мікроелементів у складі біологічно активної добавки до комбікорму;
- вмісту Цинку і 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 у коропових риб

Об'єкт дослідження: стан системи антиоксидантного захисту та імунний потенціал у різних порід коропових риб за дії сезонних чинників та комплексу вітамінів та мікроелементів.

Предмет дослідження: показники пероксидного окиснення ліпідів, активність ензимів системи антиоксидантного захисту (САЗ), клітинних і гуморальних факторів імунітету у коропових риб у весняний, літній та осінній періоди та 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), гематологічні (визначення кількості елементів крові та вмісту гемоглобіну), рибоводні (ріст та маса риб), гідрохімічні (хімічний склад води) статистичні (метод варіаційної статистики з використанням t-критерію Стюдента).

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше проведено комплексне дослідження біохімічних та імунологічних показників, що характеризують гематологічний профіль, стан природного й адаптивного імунітету, процесів пероксидного окиснення ліпідів, активність системи антиоксидантного захисту у різних порід коропових риб за впливу сезонних чинників та за дії жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду у складі добавки до комбікорму.

Вперше 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 06.06.2017р.).

Практичне значення одержаних результатів. Розроблено і впроваджено у практику вітамінно-мінеральну добавку для риб з метою підвищення адаптаційних можливостей організму, збільшення продуктивності та виживання.

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 у 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. Здобувач самостійно проаналізувала наукову літературу за темою дисертації, прийняла 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 з участю наукового керівника

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

Публікації за темою дисертації. Основні положення дисертаційної роботи й отримані результати досліджень опубліковані у 14 наукових працях (7 — в журналах, 1 — у бюлетені, 3 — у вісниках, 3 — у збірниках, 1 — теза у закордонному науковому виданні) з яких 6 статей у фахових наукових виданнях у

тому числі 4 — у науково-метричних базах даних, 1 — одноосібна стаття, 1 — патент.

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.

РОЗДІЛ 1.

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ЗА ТЕМОЮ ДОСЛІДЖЕНЬ

1.1. Вплив сезонних факторів на антиоксидантний захист і стан природного та адаптивного імунітету корокових риб

1.1.1. Породні особливості та інтенсивність пероксидних процесів і стан системи антиоксидантного захисту в організмі риб за впливу сезонних факторів. Сазан (*Cyprinus Carpio*) є однією з найбільш комерційно важливих і широко культивованих у прісній воді рибою в світі, що становить 11% від загальної світової прісноводної аквакультури [16]. Це — швидкорослі, невибагливі риби. Сазан суттєво різниться за типом живлення і чутливістю до сезонних змін умов середовища, насамперед температури води і вмісту в ній кисню.

Культурна форма сазана — короп, володіє відносно швидким темпом зростання, при невеликій вимогливості до умов зовнішнього середовища. Це найбільш розповсюджений вид ставових риб в Україні [34, 42, 66, 133, 153, 280].

Саме слово «короп», як вважають, взято з грецької мови, де воно означало «плід», «урожай». Саме плодючість і могла слугувати для назви цієї риби [19].

Сучасні породи коропа (*Cyprinus carpio L.*), виведені методом тривалої селекції і відрізняються від свого предка — сазана здатністю краще використовувати природні та штучні корми, вони більш м'ясисті та характеризуються більш швидкими темпами росту [141].

В Україні розводять українських рамчастих і українських лускатих коропів. Обидві українські породи коропа виведені за керівництва селекціонера Кузьми О. І. До структури українських порід коропа нині входять внутрішньопорідні та зональні (екологічні) типи (масиви), пристосовані до різних фізико-географічних зон України, а саме: нивківський (луската форма), малолускатий (рамчаста форма),

любінські (луската і рамчаста форми) внутрішньопорідні типи та антонінсько-зозуленецькі (луската і рамчаста форми) і несвицькі (луската і рамчаста форми) зональні типи (масиви) [79,104, 290].

Порівняно з рамчастим коропом, лускатий короп більш видовжений і має меншу голову. Рамчасті коропи за характером живлення відносяться до відгодівельного типу. Вони інтенсивно ростуть в умовах садкового вирощування на теплих водах [104]. Відомо декілька гібридів коропа, одержаних шляхом схрещування його з сазаном. Генетичні особливості коропа значною мірою впливають на його морфологічні, імунологічні та фізіолого-біохімічні особливості [16].

Основні життєві процеси у коропа найбільш інтенсивно проходять за відносно високих температур води. Оптимальні температурні межі для росту і розвитку коропа коливаються від 25 до 27°C. За умов підвищення або зниження температури води, інтенсивність живлення і засвоєння їжі у нього знижується. [66]

Пероксидне окиснення ліпідів має важливе значення для оновлення біологічних мембран, ротації їх білкового й ліпідного компонентів, регуляції фізико-хімічних властивостей мембран клітин і субклітинних структур, розвитку нормального фізіологічного метаболізму [42, 167].

Система АОЗ й інтенсивність процесів ПОЛ є одними із найбільш чутливих і швидко реагуючих систем в організмі риб, що значно змінюється в залежності від їх видових біологічних особливостей, які зумовлені, в основному, умовами їх існування, сезонних факторів та незбалансованої годівлі і недостатньому вмісті в раціоні мікроелементів, які входять до складу антиоксидантних ензимів [6, 21, 18, 43, 45, 106, 157, 163, 175, 180, 185, 201, 248].

Найбільш інтенсивно перебіг пероксидних процесів відбувається у зябрах риб при зміні температури, аерації, жорсткості води, у селезінці — при інфікуванні та імунних реакціях, у печінці – при інтоксикації [43].

Видові особливості ферментативної ланки антиоксидантного захисту у риб склалися еволюційно і детермінуються генетичними механізмами [103]. У літературі є дані щодо активності ключових ензимів системи антиоксидантного

захисту у різних груп прісноводних риб [37, 64, 67, 83]. Вона залежить від багатьох причин: зовнішніх впливів, стану організму, генетичних факторів, годівлі, сезонності, віку, статі [58].

Потрібно зазначити, що антиоксидантний статус у сазана, як і у інших риб має тканинно–специфічний характер, зокрема можна стверджувати, що не залежно від віку у міокарді сазана інтенсивність процесів аеробного окиснення і енергообміну перебувають на високому рівні [36].

Основним абіотичним чинником, що визначає поширення риб у прісних водоймах, є температурний режим. Температура діє на рибу безпосередньо — змінюючи інтенсивність ферментативних процесів, що відбуваються в організмі, активність споживання їжі, обміну речовин, хід розвитку статевих залоз та інше [105, 151]. Сезонні зміни обміну речовин — питання, що здавна і до сьогоднішнього дня цікавить дослідників. Доведено, що в період зимівлі змінюється хімічний склад організму, взагалі відбуваються зміни у ліпідному, вуглеводному та білковому обміні [220].

Особливо важливу роль відіграють ПНЖК у забезпеченні рідинного складу клітинних мембран тканин риб при зниженні температури середовища. Це приводить до підвищення вмісту у фосфоліпідах мембранного бішару кількості високоненасичених жирних кислот, таких як ейкозапентаєнова і докозагексаєнова [18, 179, 62, 220], а також більш високий ризик утворення ПОЛ [18].

Встановлено, що збільшення споживання поліненасичених жирних кислот рибами призводить до посилення пероксидного окиснення ліпідів в їх організмі. Вміст ПНЖК у ліпідах тканин риб більший, ніж у ссавців. Особливо високий вміст їх у фосфоліпідах мікросом [68]. Внаслідок цього риби більш чутливі до пероксидного окиснення ліпідів і більше залежать від активності антиоксидантної системи в їх організмі [8, 71]. Відомо що, синтез антиоксидантних ферментів та їх активність у тканинах риб значно залежить від вмісту в них мікроелементів Zn, Cu, Mn, які входять до складу СОД і КАТ [202].

Видові особливості ферментативної ланки склалися під впливом чинників зовнішнього середовища і значною мірою залежать від типу живлення у риб [113].

Вільнорадикальні процеси, зумовлені активними формами кисню, лежать в основі пероксидного окиснення ліпідів [18, 21, 244,]. Значний вплив на інтенсивність пероксидних процесів і активність антиоксидантної системи в організмі риб має вміст розчиненого у воді кисню, гіпоксія та гіпероксія [185, 207]. На початку стресу в організмі виникає короточасний гіпоксичний стан, а активація вільнорадикальних реакцій з утворенням ендogenousого кисню значною мірою компенсує нестачу O_2 . [50].

На стан системи АОЗ і інтенсивність процесів ПОЛ в весняно-осінній період головним чином впливає хімічний склад та біологічні властивості складу природної кормової бази, температурний і, пов'язаний з ним, кисневий режими. Весняний період характеризується оптимальними параметрами кисневого режиму та адаптаційним зростанням активності СОД, ГП у тканинах риб [165, 203, 182, 319].

Зокрема вміст продуктів ПОЛ у печінці та скелетних м'язах коропів у зимовий період значно більший, ніж у літній період, що можна пояснити впливом гіпоксії, зниженням активності антиоксидантних ензимів і зменшенням вмісту природних антиоксидантів [46, 71, 37].

Активність каталази є результатом адаптації системи АОЗ до умов гіпоксії, що має місце в зимовий і ранньовесняний періоди, під час яких спостерігається зниження вмісту природних антиоксидантів — вітамінів А, Е і каротиноїдів і підвищення вмісту продуктів ПОЛ [62] у тканинах коропових риб. Активність каталази, так само, як і активність інших антиоксидантних ензимів, в організмі риб у зимовий період значно нижча, ніж у літній період [18, 69, 65,]

У сазана активність каталази весною є значно вищою в порівнянні до осені. Це підтверджує те, що пероксид водню, який під впливом каталази утилізується утворює ендogenousий кисень, забезпечує перебіг аеробних біохімічних реакцій у період гіпоксії. Внаслідок оптимізації кисневого режиму водою відбувається відносна гіпероксигенація тканин сазана, що спричиняє зростання активності ГП і СОД [37].

Проте варто зазначити, що в період зимівлі в тканинах ставових риб знижується вміст ендогенних жиророзчинних антиоксидантів — токоферолу та ретинолу, що призводить до зниження активності неферментативної ланки системи АОЗ [74, 72].

До того ж, в енергетичних процесах у тканинах риб, зокрема у коропа, в зимовий період, інтенсивно використовуються амінокислоти, які звільняються в процесах протеолізу резервних тканинних білків [73]

В останні роки встановлено важливу роль мелатоніну в регуляції ПОЛ організму риб. Мелатонін є антиоксидантом, який здатний вловлювати вільні радикали. Відомо, що рівень ферменту для синтезу мелатоніну серотонін N-ацетилтрансфераза, проявляє сезонні зміни і реагує на температуру води [165, 307].

Встановлено прямий зв'язок між активністю антиоксидантної й імунної систем у риб [15, 185].

Наведені вище дані вказують на те, що інтенсивність пероксидних процесів і стан системи антиоксидантного захисту в організмі коропових риб значною мірою залежить від впливу сезонних факторів, температурного та кисневого режимів.

1.1.2. Гематологічні параметри коропових риб за впливу сезонних факторів. Рибна гематологія набуває все більшого значення через її важливість для моніторингу стану здоров'я риб [146, 315].

Біологічні ритми всіх риб показують загальні екофізіологічні явища, які суттєво впливають на гематологічний статус. А саме, чітко виражені добові і річні (сезонні) коливання всіх показників крові [261].

Умови існування риб впливають на морфологічний склад та кількісні показники червоної та білої крові. Виходячи з цього, картина крові змінюється в залежності від температури, гідрохімічного режиму, складу і кількості природних кормів, густоти посадки, віку та загального фізіологічного стану риб [77, 261, 160, 240].

Дослідження, що стосуються компонентів крові, допомагають зрозуміти взаємозв'язок характеристик крові з середовищем існування та адаптаційності

породи до навколишнього середовища [176], також є корисним інструментом оцінки їх імунної системи [265, 266,].

Морфологічна і біохімічна характеристика крові має певні відмінності в різних видів риби у зв'язку із систематичним положенням, особливостями середовища існування і способу життя [29]. У зв'язку з цим при виведенні порід і породних груп риб значна увага приділяється визначенню гематологічного профілю, який значною мірою характеризує стан цілого організму [16, 46].

Сезонні коливання концентрації гемоглобіну потенційно пов'язані зі зміною температури води і зміни концентрації кисню в воді. Риба адаптується до зміни температури води за допомогою збільшення загальної концентрації гемоглобіну або за допомогою інших механізмів, таких як зміни в червоних клітинах нуклеозиду [114, 128, 184]. В умовах зимового голодування в організмі риб розвивається температурний та ресурсодефіцитний стрес. Відповіддю на нього є збільшення впродовж зимового періоду в 1,5 разу вмісту еритроцитів та величини гематокриту. Загальний вміст гемоглобіну знижується в 2 рази, що корелює з даними про пряму залежність вмісту гемоглобіну в коропа від температури води. Загалом, дані зміни погіршують у період зимівлі забезпечення тканин киснем [10, 284]. Як і інші гематологічні параметри, підрахунок клітин білої крові у риб залежить від різних абіотичних і біотичних факторів, таких як температура води, екологічний стрес, вік [169, 173].

У коропа в периферичній крові знаходяться молоді і зрілі форми еритроцитів, лейкоцитів і тромбоцитів. Особливих морфологічних відмінностей в стадіях зрілості еритроцитів у коропа не відзначено [33].

У коропових риб розрізняють 7 груп лейкоцитів на різних стадіях цитогенезу: 5 груп гранулоцитів — нейтрофіли, еозинофіли, псевдоеозинофіли, базофіли, псевдобазофіли і 2 групи агранулоцитів — моноцити і лімфоцити. Крім того, у крові зустрічаються бластні форми: гемоцитобласти, мієлобласти, промієлоцити, мієлоцити і метамієлоцити [163б]. Виходячи з цього бачимо, що в імунній системі риб представлені всі типи клітин, що беруть участь в імунних реакціях у вищих хребетних тварин [226].

Загальна кількість лейкоцитів і відсоток окремих їх форм в організмі риб коливається і залежить від індивідуальних, вікових особливостей, пори року, присутності у воді токсичних факторів, а також від інших умов середовища риб [253]. Їх кількість у крові риб значно змінюється впродовж року, у коропа кількість лейкоцитів підвищується влітку і знижується взимку в зв'язку зі зниженням інтенсивності обміну [226]. Під час зимівлі риб диференційний підрахунок лейкоцитів характеризується більш високою часткою лімфоцитів, і меншою часткою гранулоцитів. Водночас у цей період зафіксовано більшу кількість еритроцитів (RBC) та величини гематокриту (PCV) [125]. Серед гранулоцитів риб, в усі пори року переважали нейтрофіли. Ці клітини одними з перших потрапляють в уражені бактеріями тканини, вони завжди багаточислені в зоні запалення. Їх основна функція — виділення речовин, що, по-перше, залучають у зону запалення інші клітини і, по-друге, сприяють елімінації бактерій [123, 180]. На весні та влітку в крові дворічних особин коропів зустрічаються мієлоцити та метамієлоцити [25].

Відомо, що синтез білків відіграє важливу роль у процесах росту та розвитку коропа [245, 277]. У сприятливі періоди життя вміст білка у крові риб більший, ніж після їх голодування, зимівлі, нересту, а також хвороб [32]. Так, наприклад, вміст білка у цьоголіток коропа становить — 2–3 %, у більш старших риб — 5–6 %. У цілому відзначається збільшення концентрації плазмових білків з віком риб, а також упродовж вегетаційного періоду. Наприклад, у сазана в двомісячному віці вона становить — 5 %, в однорічному віці — 3 %, в двох річному віці — 4 %. Вміст у крові молоді коропа альбумінів і бета-глобулінів знаходиться в прямій залежності від температури води. Крім того, гіпоксія, погана кормова база в водоймах також призводять до зниження забезпеченості організму риби альфа — і бета—глобулінами [6, 11, 156].

Загалом проведений аналіз літературних джерел свідчить про незаперечний вплив сезонних чинників, на гематологічний профіль коропових риб.

1.1.3. Стан природного та адаптивного імунного захисту в організмі риб за дії сезонних чинників. Імунна система являє собою захисну систему, в

результаті дії якої підтримується сталість внутрішнього біологічного середовища організму, тобто розвивається імунітет до чужорідних антигенів, надмолекулярної і клітинної організації, знищуються власні змінені клітини і нейтралізуються продукти їх життєдіяльності [147, 251, 308].

Кісткові риби володіють схожими механізмами імунної системи як у ссавців — це неспецифічний (вроджений або природний) і специфічний (набутий або адаптивний) [122, 176, 251, 222, 287, 276, 283, 257, 205, 299, 300, 303, 305, 320].

Основними імунними органами у риб є нирки, тимус, селезінка та асоційована лімфоїдна тканина (у кишечнику коропа) [254, 273, 302]. Розмір тимуса, більше залежить від гормональних циклів і сезонних коливань, ніж від віку риб [257, 148].

Сезонні цикли риб можуть впливати на ряд біологічних активностей, таких як поведінка, харчування, метаболізм, імунітет та розмноження риб [276],

Характерним для риб є домінування неспецифічних факторів захисту, а на ранніх етапах онтогенезу вони є визначальними [204]. Неспецифічні імунні клітини утворюються у місці інфекції, насамперед — запальні цитокіни [235, 294, 295]. Цитокіни, як модулятори імунної відповіді мало вивчені у риб. Значна кількість цитокінів функціонують у телеостах [121], але мало доступних даних, у порівнянні з ссавцями. Більшість цитокінів, ідентифікованих на сьогоднішній день, та дані щодо регуляції цитокінів були отримані у культурах клітин макрофагів [258]. Інший потенційно важливий цитокін, пухлинний некроз, фактор альфа (TNF- α), також був клонований у різних видів риб [031]. Інші цитокіни та регуляторні молекули в риби включають ряд інтерлейкінів (IL-6, IL-8, IL-10, IL-12) [278]. Інтерлейкін-1 β , головним чином вироблений макрофагами [258, 306, 318]. Це є важливий компонент запалення у відповідь на інфекцію [172]

Аналізуючи дані літератури, стає очевидним, що увага дослідників переважно спрямована на вивчення клітинної ланки імунного захисту риб — лімфоцити, нейтрофіли, тощо [255, 268, 276].

Імунокомпетентність у впливає на сезонні коливання та біохімічні, гематологічні та імунологічні показники [316, 317], такі як кількість клітин крові, гематокрит [278], активність лізоциму [253], кількість макрофагів [133].

Фагоцитоз вважається основним процесом неспецифічної резистентності у риб [255], тому що цей процес, найбільшою мірою, залежить від температури [116, 230]. Сезонні зміни фагоцитарної активності були вивчені у різних видів риб [234]. У дослідженнях вивчали фактори, що впливають на інтенсивність ФА в культивованого сазана [138, 252].

Плазмові рівні лізоциму проявляють сезонний характер діяльності впродовж 12-місячного періоду [257, 264]. Збільшення фотоперіоду може також призвести до збільшення його активності [267].

За низьких температур (менше 10°C) імунна відповідь пригнічується [155, 196, 257, 217].

Разом з тим, з'являються і окремі відомості про нові гуморальні фактори природної резистентності риб [304, 316]. Зокрема, виявлено білки пісцидини [112, 310] та фермент тирозиназа [137], що належать до родини антимікробних пептидів.

Неспецифічний імунітет відіграє ключову роль в набутій імунній відповіді та гомеостазі через систему рецепторних білків. Ці рецепторні білки ідентифікують молекулярні моделі, які є характерними для патогенних мікроорганізмів, у тому числі полісахариди, ліпополісахарид (ЛПС), пептидогліканова бактеріальна ДНК, вірусна РНК та інші молекули, які зазвичай не знаходяться на поверхні багатоклітинних організмів [251, 263, 309].

Імунна система здатна виробляти специфічні антитіла, різноманітні за своєю специфічністю для кожного антигена. Однак система розпізнавання антигенів недосконала та залежить від багатьох зовнішніх факторів, таких як температура, кислотність, солоність води, повноцінність годівлі [239].

Водночас, риби у філогенезі стали першими хребетними тваринами, в яких поряд із неспецифічними факторами захисту, починає розвиватись адаптивна імунна відповідь, опосередкована лімфоцитами [254]. Адаптивний імунітет,

визначає патогени через молекули, які генеруються соматичними механізмами з подальшим гуморальними і клітинними реакціями через В- і Т-лімфоцити [161, 172, 234, 301]. Клітинна імунна відповідь (фагоцитоз) пов'язана з системою Т-лімфоцитів і відіграє більшу роль у місцевих запальних процесах [116, 277].

Кількість лімфоцитів в периферичній крові риб на порядок вища, ніж у крові ссавців, вона залежить від сезону, фізіологічного стану організму і екологічних чинників. За низької температури води інтенсивність утворення антитіл в лімфоцитах риб знижується. При цьому також знижується здатність лімфоцитів до руйнування антигена [170, 266, 296, 297, 298]. Показано, що кількість антигенеруйнущих лімфоцитів у коропа при температурі води нижче 4°C вірогідно зменшується, а при температурі 22—26°C — збільшується [149].

Існуючий функціональний аналіз крові разом з реакційною здатністю моноклональних антитіл характеризує наявність допоміжних (Th) [292, 293] і цитотоксичних (Tc) Т-лімфоцитів і субпопуляції В-клітин [118, 264, 267, 313, 314]. Основним компонентом адаптивної гуморальної імунної відповіді у риб є імуноглобуліни М (IgM), IgD та IgZ або IgT [117, 119, 312]. Виявлені чіткі сезонні зміни плазмових рівнів IgM, що пов'язано з температурою води і дозріванням гонад [206].

Таким чином, хоча риба може мати більш високу стійкість до низьких температур, сильне зниження температури призводитиме до імуносупресії [194].

Однією з найбільш актуальних проблем сучасного ставового рибиництва в Україні є зниження резистентності риб, що зумовлено негативною дією низки чинників: неповноцінною годівлею, антропогенною дією екологічних чинників, порушенням технологій їх вирощування [17, 22, 147].

Крім того, рівень кисню у воді може модулювати імунну відповідь [267].

Отже, наявні в літературі дані свідчать про значний вплив сезонних чинників, температури середовища, концентрації кисню, антигенного навантаження на клітинну та гуморальну ланки імунної відповіді у риб.

1.2. Вплив вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Zn, Se, І на антиоксидантний і імунний захист та на ріст і збереженість коропів

Вітаміни відіграють значну роль у регуляції природної і адаптивної імунної відповіді [27, 225]. Жиророзчинні вітаміни володіють широким спектром біологічної дії, забезпечують нормальний перебіг біохімічних та фізіологічних процесів в організмі, вони проявляють вплив на різні ланки обміну речовин, а також мають антиоксидантні та імуномодуючі властивості [255].

Роль мікроелементів у організмі риб подібна до їх ролі в інших живих організмів. Вони входять до складу тваринних організмів як компоненти гормонів та ферментів, що забезпечують їх фізіологічну функцію та відповідну інтенсивність обміну речовин [276]. Головна відмінність риб від наземних хребетних полягає в тому, що вони отримують мікроелементи не тільки з кормом, але і безпосередньо з води через зябра та шкіру [112]

На сьогоднішній день нормативні значення жиророзчинних вітамінів добре вивчені у сільськогосподарських тварин. Проте, кількісна потреба в жиророзчинних вітамінах, і, особливо, мікроелементів Цинку, Йоду та Селену, а також їх вплив на функцію імунної та антиоксидантної систем у риб вивчена лише у деяких видів [3].

1.2.1. Вплив вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Zn, Se, І на інтенсивність ПОЛ, активність САЗ функціональний стан клітинної і гуморальної ланок імунітету риб. Вітамін А володіє широким спектром біологічної дії в організмі тварин і риб. Потреба риб у вітаміні А залежить від багатьох чинників — виду і віку риб, етапу життєвого циклу (личинка, молодь, плідники у період дозрівання гонад і нересту), температури води, складу кормів і становить приблизно 1000 – 5000 ІО/кг корму [81].

Він приймає участь у забезпеченні зорової, антиоксидантної, імунної і репродуктивної функцій, впливає на процеси росту, проліферацію і диференціацію епітеліальних клітин, забезпечує структуру і організацію клітинних мембран. Вітамін А здійснює вплив на різні ланки обміну речовин в живому організмі, зокрема на синтез білків, ліпідів, глікопротеїнів [28, 295, 149]. Встановлено, що ретиналь, який вбудований у бішарову ліпідну структуру мембрани, проявляє фотодеструктивний вплив як на білкові, так і на ліпідні компоненти мембрани. Ретиноїди можуть змінювати структуру глікопротеїнів і гліколіпідів, які входять у склад клітинних мембран, що призводить до зміни функціональних властивостей мембрани, а зокрема, впливає на адгезію. Деякі автори вважають, що наявність вітаміну А в клітинних мембранах впливає на мікрров'язкість ліпідного бішару, яка залежить від співвідношення насичених і ненасичених жирних кислот у фосфоліпідах мембран [130].

Вітамін А належить до неензимної ланки антиоксидантної системи [294]. Відомо, що завдяки наявності у молекулі вітаміну А ланцюга зі спряженою системою подвійних зв'язків ізопреноїдного типу, він може проявляти антиоксидантні властивості [136]. Ретиноли здатні вловлювати синглетний кисень і стабілізувати пероксидні радикали. Було відмічено, що антиоксидантні властивості ретинолів зменшуються в ряді: ретинол > ретиналь > ретинілпальмітат > ретиноєва кислота [111, 134]. З іншого боку, ретиноїди проявляють антиоксидантні властивості завдяки своїй здатності знешкоджувати вільні радикали [221].

Деякі автори стверджують, що вітамін А збільшує резистентність еритроцитів. Оскільки вітамін А відіграє важливу роль у кровотворенні та збереженні цілісності клітинних мембран [136].

Вітамін А має стимулювальний вплив на імунну систему риб [47, 82]. Він забезпечує імунну відповідь, яка характеризується продукцією антитіл або специфічно сенсibilізованих лімфоцитів після контакту з антигеном [192]. Найбільш активною формою вітаміну А є ретиноєва кислота. Вона виконує

важливу роль як для імунної системи так і для процесів відтворення, росту і розвитку [64]. В умовах дефіциту вітаміну А пригнічується гуморальна імунна відповідь на Т-залежні антигени, знижується активність цитотоксичних лімфоцитів, синтез ІЛ-2, підвищується синтез ІЛ-10 і ІЛ-12 [213, 216,].

Вітамін А необхідний також для адаптивного імунітету та відіграє важливу роль у розвитку як Т-хелперів (Th), так і В-клітин. Зокрема, дефіцит вітаміну А зменшує антитіло-опосередковані відповіді Th-2 клітин, хоча деякі аспекти Th-1-опосередковано імунітету теж зменшуються [38].

Вітамін D₃ — (холекальциферол) один із найбільш важливих представників вітамінів групи D. Широким спектром біологічної дії володіє не сам цей вітамін, а його похідні. Зокрема, вітамін D₃ суттєво впливає на обмін ліпідів, вуглеводів і, особливо на мінеральний обмін, загальновідомо, що він регулює обмін Кальцію і Фосфору. Цим також обумовлено важливе значення вітаміну D₃ для нормального функціонування імунної системи та репродуктивної функції риб [28].

Згідно норм NRC потреба риб у вітаміні D становить 1000 –2000 ІО/кг корму.

Вітамін D і його метаболіти характеризуються високою біологічною активністю і передозування їх при введенні тваринам може викликати токсичну дію з летальним наслідком [126, 121, 139, 169, 186, 211, 219, 233, 241, 291].

Протягом останнього десятиріччя уявлення про роль вітаміну D зазнали суттєвих змін, пов'язаних з виявленням рецептора вітаміну D та активуючого його ензиму 1- α -гідроксилази в багатьох типах клітин [168, 224, 209] у тому числі й у клітинах імунної системи: лімфоцитах, моноцитах антигенпрезентуючих клітинах [178, 231, 282].

Згідно сучасних уявлень вітамін D стимулює імунну відповідь, тобто спектр його дії ширший, ніж вважалось раніше [9, 20, 31, 60, 229, 247]. Вітамін D стимулює неспецифічний імунітет. Він впливає на моноцити і макрофаги посилюючи їх хемотаксис та фагоцитарну активність [28, 20, 290].

Крім безпосереднього стимулювання фагоцитарної активності кальцитріол виявляє модуляторний ефект на антигенпрезентуючі клітини. Зокрема, показано,

що кальцитріол впливає на функцію і морфологію дендритних клітин, діючи на них як толероген і пригнічуючи їх дозрівання [233].

Вітамін D пригнічує проліферацію і диференціацію Т-хелперів і модулює продукування ними цитокінів [28, 181, 223, 233, 271].

Разом з тим, встановлено пряму дію кальцитріолу на В-лімфоцити, яка проявляється в зменшенні утворення клітин пам'яті та плазматичних клітин, а також у посиленні апоптозу імуноглобулін-продукуючих В-лімфоцитів [462, 463].

Вітамін E — (α -токоферол) головний біологічний ланцюгоруйнівний антиоксидант, виявлений у формі чотирьох токоферолів та чотирьох токотрієнолів [238, 289].

Встановлено, що потреба риб у вітаміні E знаходиться в межах 20 –50 мг/кг сухої речовини корму [28].

γ -Токоферол антиоксидант першої необхідності для вирощування більшості видів риб, який забезпечує захист від окиснювального пошкодження в різних тканинах риб [197]. Вітамін E зменшує вивільнення активних форм кисню, тим самим зменшуючи адгезію моноцитів до ендотелію [197]. Антиоксидантна дія вітаміну E зумовлена, з одного боку, його здатністю віддавати водень фенольного кільця, який використовується у знешкодженні вільних радикалів, що призводить до переривання ланцюга пероксидації. З другого боку, вітамін E здатний вловлювати і знешкоджувати вільні радикали, попереджуючи тим самим пероксидне окиснення ПНЖК [23].

Зокрема, вітамін E займає центральне положення в неензимному антиоксидантному захисті в організмі коропа [285, 11].

Зміни вмісту вітаміну E в печінці ставкових риб протягом річного циклу вирощування знаходяться в зворотній залежності до змін вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів (гідроперекисів, малонового діальдегіду). що свідчить про його важливу антиоксидантну роль [358].

Багатьма авторами показано позитивний вплив вітаміну Е на імунну функцію, репродуктивну здатність і стійкість до хвороб у багатьох видів риб [28, 140, 144, 169, 162, 212].

Вітамін Е також блокує вивільнення протизапальних цитокінів, у тому числі ІЛ-1, ІЛ-6, хемокінів ІЛ-8, моноцитами і макрофагами [236]. Вітамін Е може також діяти безпосередньо на Т-клітини, тим самим допомагаючи зменшити запалення й імуніопосередковане пошкодження тканин [198].

Вітамін Е слугує для опірності червоних кров'яних тілець до гемолізу та проникності капілярів [237].

Дефіцит дієтичного вітаміну Е в рибі підвищує деформації мембран та крихкість еритроцитів, полегшує гемоліз [164], та зменшує час виживання клітин, що призводить до порушень гематологічних властивостей, таких як зниження рівня гематокриту та концентрації гемоглобіну [132].

Селен (Se) і вітамін Е — відомі антиоксидантні сполуки, які широко застосовуються у тваринництві для забезпечення фізіологічно нормального гомеостазу організму, профілактики порушень обміну речовин. Вказані антиоксиданти оптимально діють за спільного використання, оскільки, впливаючи на різні ланки антиоксидантного захисту доповнюють один одного [146, 288]. Метаболічні ефекти Селену та вітаміну Е взаємопов'язані і їх дефіцит викликає подібні патологічні зміни в організмі [243]. Синергічна дія Селену та вітаміну Е пов'язана з їх впливом на різні ділянки антиоксидантного захисту організму. Зокрема, було встановлено, що вітамін Е у мембранах мітохондрій утворює комплекси з фосфоліпідами, в яких міститься арахідонова кислота, на основі чого постулювалася його захисна функція по відношенню до поліненасичених жирних кислот [288].

Особливе місце серед мікроелементів належить Селену, який, незважаючи на його низький вміст в організмі риби, відіграє надзвичайно важливу роль. Цей елемент сприяє посиленню синтезу нуклеїнових кислот (ДНК і РНК) у печінці,

підтримує функціонування підшлункової залози і завдяки цьому забезпечує засвоєння ліпідів і жиророзчинних сполук. Селен входить до складу багатьох білків, серед яких є і ферменти. Зокрема, Селен входить до складу активного центру глутатіонпероксидази – ферменту, який займає ключове положення у знешкодженні продуктів ПОЛ, а також до складу дейодиназ, котрі каталізують реакції перетворення тироксину у трийодтиронін [189, 243].

Селен чинить опосередкований вплив на активність супероксиддисмутази і каталази. Дійшли висновку, що під впливом селену, незважаючи на зростаючу активність глутатіонпероксидази і каталази у тканинах коропа, інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів залишається на високому рівні [14].

Селено-вмісні амінокислоти, такі як Se-метіонін, Se-цистеїн, можуть проявляти аналогічну дію, зв'язуючи вільні радикали, чи брати участь в нерадикальному розщепленні ліпідних пероксидів. Селен регулює метаболізм вітамінів А, С, Е і К [370].

Згідно з літературними даними оптимальна потреба ставкових риб у Селені становить 0,2 — 0,5 мг/кг корму [28]. У малих та середніх дозах цей мікроелемент здійснює ефективний антиоксидантний захист мітохондрій.

У США з метою попередження дефіциту Селену в раціон всіх видів тварин, птиці і риб додають Селен у вигляді селеніту натрію, як біологічно активну добавку, в кількості 0,3 мг/кг корму незалежно від його кількості в раціоні [14].

Селен бере участь у забезпеченні клітинного та гуморального імунітету [373]. Крім Йоду, на синтез T_3 в щитоподібній залозі впливає також Селен. Це зумовлено тим, що він входить до складу T_4 - 5^1 -дейодиназ, які каталізують відновлення йоду в 5^1 -положенні зовнішнього кільця тирозину [214].

Цинк (Zn) — є хімічним елементом із змінною валентністю. Тим самим, він здатний ініціювати реакції вільнорадикального окиснення ліпідів біомембран [13]. Вказаний елемент є компонентом багатьох металоензимів [39]. Зокрема, він входить до складу супероксиддисмутази, карбоангідрази, алкогольдегідрогенази, карбоксипептидази, лужної фосфатази, РНК-полімерази [14, 311]. Тобто, він

впливає на прооксидантно-антиоксидантну рівновагу організму: на інтенсивність процесу пероксидного окиснення ліпідів, шляхом віддачі електронів; на стан системи антиоксидантного захисту, змінюючи інтенсивність синтезу ензимів антиоксидантного захисту [274].

Цинк пов'язаний з метаболізмом простагландинів, білків і нуклеїнових кислот та засвоєнням поживних речовин корму [188].

Крім того, Цинк входить до складу нуклеопротейнів і впливає на активність генів, які контролюють ріст риб. Його недостатність в раціоні риб призводить до зниження перетравності і засвоєння поживних речовин, зменшення його кількості в гонадах, зниження супероксиддисмутазної активності та розвиток оксидативного стресу, та до швидкого зниження інтенсивності росту риб. Крім цього, на вміст Цинку в тканинах риб впливає його концентрація у воді [108].

Цинк залучений до обміну вітаміну А шляхом регуляції активності ретиненредуктази та алкогольдегідрогенази; ці ферменти каталізують перетворення ретинолу в альдегід вітаміну А в процесі, що забезпечує зір [457].

Цинк є компонентом тимозину, який регулює клітинний імунітет [57].

Цинк бере участь у процесах енергетичного обміну, проліферації та диференціації клітин. Найбільша потреба риб у Цинку відзначена в період інтенсивного росту [108]. Цинк в організмі риб накопичується у значній кількості у печінці, гонадах та яєчниках, що обумовлено його стимулювальним впливом на репродуктивну функцію риб [108]. Про регуляцію обміну Цинку в організмі риб відомо мало. Показано, що пригнічення або підсилення функції щитоподібної залози у риб спричиняє появу типових симптомів цинкової недостатності [23].

Дані літератури вказують на те, що оптимальний вміст Цинку в кормах для коропів становить 61-288 мг/кг. Цинк у кількості 294 мг/кг корму негативно впливає на ріст коропів [108].

З високим вмістом Цинку в організмі карася (*Carassius carassius*) пов'язують його здатність виживати при аноксії. Згодовування коропу (*Cyprinus carpio*) комбікорму, що містить високий вміст Цинку, призводить до підвищення

виживання риб при аноксії [39].

Застосування у рибицтві Йоду, зокрема його органічної форми, головним чином пов'язано з прагненням збільшити вміст цього елементу в м'язових тканинах коропа. Однак, цей елемент активно використовується в метаболізмі шляхом впливу на гормональні процеси регуляції, які здійснюються щитоподібною залозою, та впливає на засвоєння нутрієнтів [80].

Йод (I) — відноситься до життєво необхідних елементів для тварин, у тому числі для риб. Він входить до складу тиреоїдних гормонів — тироксину і трийодтироніну [40, 189], які відіграють важливу роль у регуляції ряду фізіологічних функцій і різних ланок обміну речовин в їхньому організмі, впливають на частоту метаболізму, зростання та основні процеси розвитку [143, 231]. Тиреоїдні гормони впливають на синтез багатьох гормонів, ферментів, які каталізують перетворення метаболітів, вітамінів та мінеральних елементів [108, 129, 135].

Встановлено, що тироксин стимулює процеси ліполізу в жировій тканині [200], а цей процес відіграє важливу роль у регуляції калорійного і температурного гомеостазу в організмі тварин [152]. У печінці, м'язах і нирках тварин за умов *in vitro* і *in vivo* за дії тироксину збільшується поглинання кисню, активність Na/K – АТРази і продукція АТР [134], а також збільшення теплопродукції [159].

Трийодтиронін стимулює транспорт енергетичних субстратів і кисню та продукцію АТФ у мітохондріях. Тиреоїдні гормони активують гормон-чутливу ліпазу, завдяки чому посилюється окислення жирних кислот і генерується АТФ, яка використовується в процесах термогенезу [190, 191].

Щитоподібна залоза у риб представлена фолікулами, які знаходяться у основній частині нирки. Це розташування полегшує функціонування між імунною системою і щитоподібною залозою [215, 279].

Імунна система вважається важливим регулятором діяльності гормонів щитоподібної залози [131, 171, 158, 193, 227].

Проведені дослідження показали, що посилення продукції тироксину щитоподібною залозою дворічок коропів при збільшенні споживання йоду

приводить до підвищення лізоцимної, бактерицидної і комплементарної активності в сироватці крові [79].

Надзвичайно важливим для нормального функціонування репродуктивної системи риб є функціональний стан залоз внутрішньої секреції, таких як гіпофіз, і, особливо щитоподібної залози у самиць коропа у переднерестовий і нерестовий періоди. Дефіцит Йоду у раціоні риб призводить до зниження їх імунної та репродуктивної функції, затримки росту молодняку і порушення синтезу тироїдних гормонів [40, 79].

Кількість Йоду в раціоні коропа може коливатися у дуже широких межах, проте дослідження показали, що оптимальною слід вважати кількість 5-20 мг/кг корму [4, 79]. Важлива роль Йоду і Селену у життєдіяльності людини і тварин є загальновизнаною. Так, згідно зі встановленими нормами у США добова потреба людини у Селені становить 3, у Йоді — 150 мкг [76].

Фізіологічний стан та стрес фактори значно впливають на потреби організму до цього мінералу [270].

1.2.2. Вплив вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Zn, Se, І на ріст та збереженість коропів. У коропів, які отримували стандартний комбікорм і той самий корм із додатковою кількістю вітаміну А, порівняно до коропів, що споживали лише природний корм, спостерігалася значно вища інтенсивність росту. Зокрема, маса коропів була більша відповідно в 1,97 і 2,05 разу, а довжина тіла — на 20,7 і 25,2 %, ніж у коропів контрольної групи ($p < 0,001$) [192].

Згодовування вітаміну D в складі комбікорму підвищує якість м'яса та вирощуваність сазанів [290].

Вітамін Е є одним з найбільш важливих поживних речовин, що впливають на імунну систему риб, а також його надходження в раціон може знизити смертність і підвищити продуктивність риби, збільшуючи специфічні та неспецифічні імунні реакції [237] та на ріст [136].

Оптимальне забезпечення потреби ставових риб у Селені позитивно впливає на активність антиоксидантної системи в їхньому організмі і приводить до підвищення вмісту Селену у м'ясі [14, 17].

При внесенні Селену у воду водойм вміст Селену в тканинах коропа, у тому числі у скелетних м'язах, збільшується [17, 49], що позитивно впливає на харчову і біологічну цінність м'яса.

Цинк проявляє анаболічну дію на організм коропів. Він стимулює обмінні процеси в організмі риб і тим самим підвищує інтенсивність їх росту та вгодованість. Це може вказувати на те, що Цинк підвищує засвоєння поживних речовин корму та їх трансформацію у складові компоненти скелетних м'язів коропів [23].

Важливу роль відіграє Йод і у процесах росту риб, про що свідчить значне підвищення інтенсивності росту коропа при збільшенні вмісту Йоду у воді ставу шляхом внесення КJ. Показано збільшення вмісту Йоду в скелетних м'язах коропа і товстолобика при підвищенні його рівня у воді [154]. З цих даних випливає, що збільшення рівня Йоду у воді ставу призводить до більш інтенсивного поглинання його рибами через зябра та шкіру, подібно до того, як поглинаються інші мікроелементи [228].

Висновки до розділу.

Аналіз наявної літератури свідчить про вплив сезонних чинників (температури середовища, концентрації кисню) та антигенного навантаження на інтенсивність ПОЛ, систему антиоксидантного захисту, гематологічний профіль та імунну систему коропових риб. Проте, відсутні чіткі комплексні дані щодо порівняння особливостей імунного потенціалу та формування антиоксидантного статусу коропа лускатого, коропа рамчастого і сазана.

Водночас очевидним і загальновідомим фактом є те, що пониження температури води і коливання вмісту Оксигену в ній призводить до зниження резистентності організму коропових риб та підвищення інтенсивності пероксидних процесів. У зв'язку з цим, науково-практичний інтерес становить створення

біологічно активної добавки на основі жиророзчинних вітамінів та мікроелементів в оптимальній концентрації з високою ефективністю, поживною цінністю та високим рівнем екологічної безпеки.

Спільний та широкий спектр впливу описаних вище вітамінів і мікроелементів на активність клітинні і гуморальні механізми неспецифічної та специфічної резистентності, гематологічний профіль, а також інтенсивність окисних процесів і системи антиоксидантного захисту в крові та тканинах риб, недостатньо висвітлений у літературі. Проте важливість та прикладне значення даного питання зумовлює актуальність теми дисертаційної роботи.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Методика та схеми проведення дослідів

Експериментальні дослідження проводилися в Інституті біології тварин НААН і Львівській дослідній станції Інституту рибного господарства НААН.

Дослідження були проведені у двох етапах, у кожному з яких ставилась конкретна мета і завдання.

Годівлю риб здійснювали стандартним комбікормом. Рибу виловлювали зі ставів траловим методом.

Перший дослід (рис.1) був проведений з метою з'ясувати сезонні особливості стану імунної й антиоксидантної систем в рамчастого та лускатого коропа і сазана та визначити періоди активності природного та адаптивного імунного захисту протягом весняного, літнього і осіннього періодів вирощування.

Було підібрано три групи ставових риб — рамчастий короп, лускатий короп і сазан дворічного віку. Згідно із завданнями досліджень у них відбиралися зразки крові із серця риб в різні пори року: весняний період (травень), літній період (серпень), осінній період (жовтень).

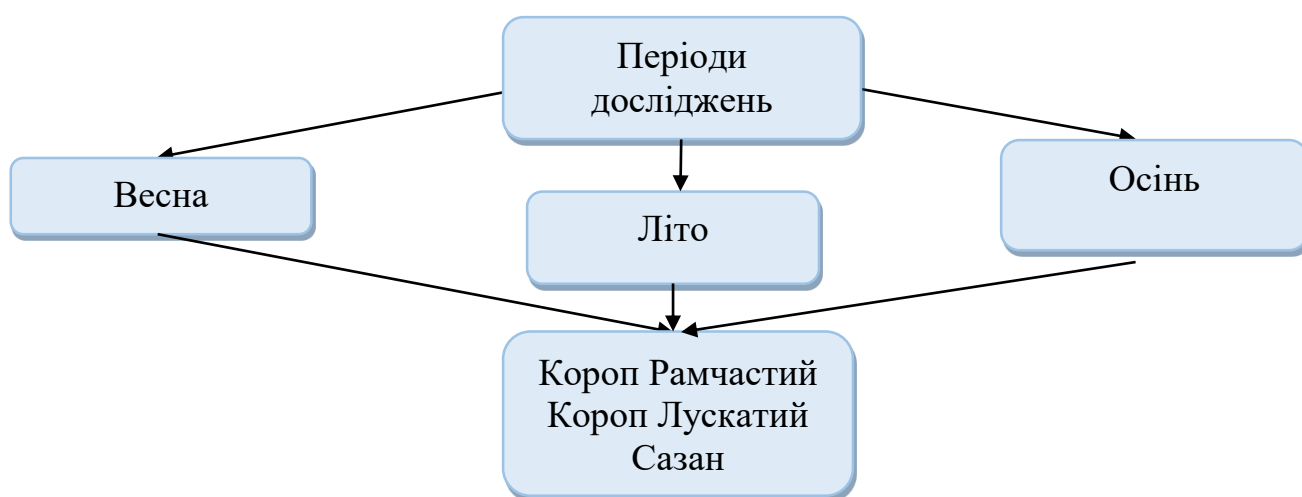


Рис. 1. Схема першого етапу досліджень

Гідрохімічні показники у ставах були в межах норми (див. додаток А). Середньо-статистична температура води у травні, становила $17,6 \pm 1,01^{\circ}\text{C}$, серпні — $20,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, у жовтені — $13,6 \pm 0,28^{\circ}\text{C}$.

Другу серію (рис.2) досліджень було проведено у Львівській дослідній станції Інституту рибного господарства НААН на двох групах риб (короп рамчастий і сазан), двохрічного віку, які за принципом аналогів були розділені на дві контрольні та дві дослідні групи по 10 особин у кожній. Риби утримувалися у спеціальних лотках за умов постійної замкненої системи циркуляції води. Рибам контрольних груп упродовж 30-ти діб згодовували гранульований комбікорм. Особиам дослідних груп згодовували аналогічний комбікорм з добавками препарату “Тривіт” у кількості 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.

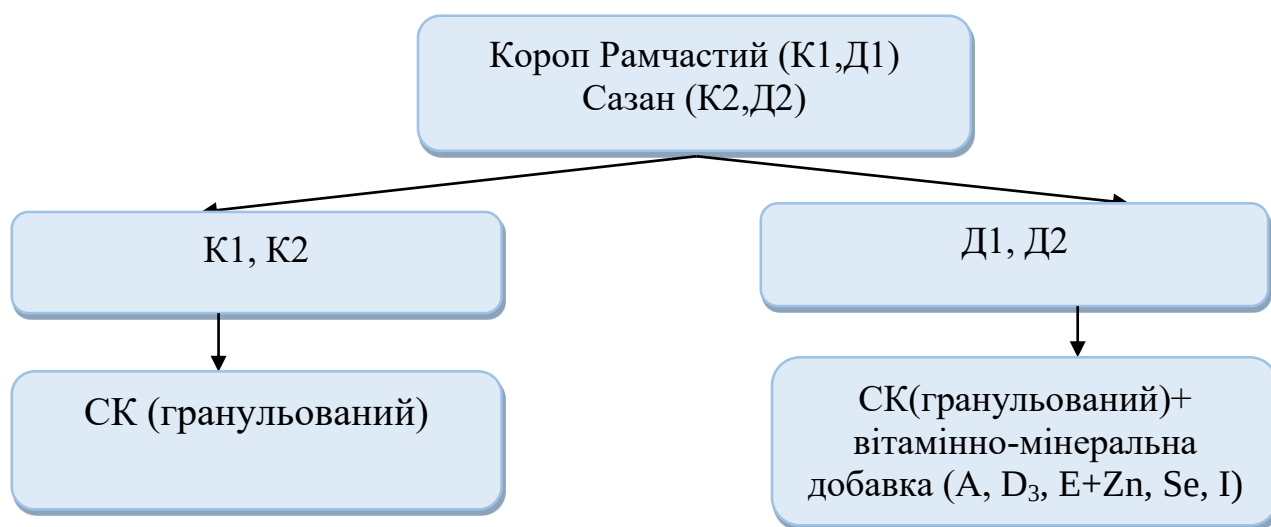


Рис. 2. Схема другого етапу досліджень.

Відбиралися зразки крові із серця риб за допомогою піпетки Пастера, застосовуючи метакайновий наркоз у осінній період.

В якості коагулянту використовувався гепарин у розрахунку 25 МО на 1 мл крові. У зразках крові (гемолізатах еритроцитів) та в гомогенатах тканин визначали активність ензимів — супероксиддисмутази (ЕС 1. 15.1.1.), каталази (ЕС 1.11.1.6) та глутатіонпероксидази (ЕС 1.11.1.9.), за використанням описаних методик та

вміст продуктів ПОЛ — гідроперекисів ліпідів і ТБК-активних продуктів у плазмі крові.

У стабілізованій гепарином крові визначали величину гематокриту, концентрацію гемоглобіну та кількість еритроцитів за методичними рекомендаціями (Селиверстов В. В., 1999). Лімфоцити виділяли зі стабілізованої гепарином крові у градієнті фікол-верографіну. Загальну кількість Т-лімфоцитів (Е-РУЛ) визначали в реакції спонтанного розеткоутворення з еритроцитами вівці, їх субпопуляції – Т-хелпери; кількість «активних» Т-лімфоцитів; 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. В-лімфоцити (ЕАС-РУЛ) визначали в реакції комплементарного розеткоутворення з еритроцитами вівці. У стабілізованій гепарином крові визначали фагоцитарну активність та інтенсивність полінуклеарних клітин до добової культури *Aeromonas hydrophila*. У сироватці крові — бактерицидну активність (БАСК) до мікробної культури *Aeromonas hydrophila* (штам 3605;); лізоцимну активність (ЛАСК) до добової культури *Micrococcus lysodeikticus* (штам ВКМ-109) – фотонейфелометричним методом. Визначення БАСК, ЛАСК і ФА проводили з урахуванням специфіки дослідів на гідробіонтах, використовуючи відповідні добові культури лабораторних штамів і температурний режим культивування [56].

Наприкінці дослідів проводили зважування та вимірювання досліджуваних коропів. Визначали абсолютний приріст риб за період згодовування жиророзчинних вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Цинку, Селену та Йоду.

У гепатопанкреасі та скелетних м'язах коропів досліджували вміст Селену та Цинку методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії.

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.

2.2. Методи визначення імунологічних показників

Визначення кількості лейкоцитів [52]. Кров з годинникового скла набирали в змішувач для підрахунку еритроцитів ссавців до позначки 0,5 або 1. Кінчик змішувача витирали ватою, набирали розчин А (25 мг нейтральрота і 0,6 г натрію хлористого розчиняють в 100 мл дистильованої води) до половини розширення змішувача, потім до мітки 101 заповнювали розчином Б (12 мг кристалвіолет, 3,8 мг натрію цитрату і 0,4 мл формаліну розчиняли в 100 мл дистильованої води).

Кров набирали до позначки 1, виходить розведення в 100 разів. Після наповнення зі змішувача знімали гумову трубку, затискали його між великим і середнім пальцем і перемішували кров з разбавленою рідиною. Змішувач залишали у горизонтальному положенні на 5-10 хвилин, потім знову перемішували. Перші 2-3 краплі, що виходили із змішувача, струшували і тільки наступної краплею заряджають лічильну камеру. Покривне скло повинне бути заздалегідь притертою до лічильної камері до появи кілець Ньютона. Під дією розчинів А і В відбувалось забарвлення формених елементів крові. Ядра лейкоцитів фарбуються в темний фіолетово-червоний колір, а протоплазма - в рожевий. В еритроцитах слабо забарвлюються тільки ядра. Завдяки цьому еритроцити і лейкоцити помітні в камері.

Кількість лейкоцитів підраховували в 80 великих квадратах і визначали їх кількість за формулою:

$$x = mx250xY / n, \text{ де:}$$

X - кількість лейкоцитів в 1 мкл,

M-загальна кількість клітин у підрахованих квадратах,

У - ступінь розведення крові,

п - число переглянутих квадратів.

Диференційний підрахунок лейкоцитів (лейкограма) [30]. Підрахунок лейкоцитів проводили в центральних і декілька віддалених від бічного краю в ділянках початкової третини частини мазка. Всі зустрівші клітини крові записували у спеціальну таблицю відповідно до класифікації клітинних форм (Іванова, 1983) і розраховували процентне співвідношення груп лейкоцитів у відсотках. Для цього використовували формулу:

$$X = (A \times 100) / 200, \text{ де:}$$

X - відсоток визначається групи клітин в лейкоцитарній формулі; A - кількість цих клітин, знайдене при підрахунку 200 лейкоцитів.

Лейкоцитарна формула вказує тільки на відносне співвідношення лейкоцитів. Для визначення їх абсолютного значення використовували формулу перерахунку, тобто з'ясовували кількість кожного виду клітин в 1 мкл крові (шт./мкл).

Формула перерахунку:

$$X = (A \times B) / 100, \text{ де:}$$

A - відсоток визначених груп лейкоцитів у лейкоцитарній формулі, %;

B - загальна кількість лейкоцитів в 1 мкл, тис. шт. / мкл;

100 - загальний відсоток всіх лейкоцитів у лейкоцитарній формулі. %

Дослідження популяційного складу Т- і В-лімфоцитів крові. Визначення відносної кількості Т-лімфоцитів проводили за допомогою методу спонтанного та індукованого розеткоутворення з еритроцитами барана у якості маркерів [127]. Принцип методу полягає в здатності лімфоцитів, за відповідних умов, утворювати так звані “розетки” з гетерогенними еритроцитами, в центрі якої знаходиться лімфоцит, а по периферії еритроцити, завдяки наявності на мембранах лімфоцитів специфічних рецепторів. За кількістю еритроцитів, адсорбованих одним лімфоцитом, судять про ступінь активності Т-клітин, оскільки цей феномен зумовлений щільністю рецепторів на поверхні лімфоцитів і характеризує функціональні властивості останніх.

Хід визначення:

приготування забуференого фізіологічного розчину для відмивання лімфоцитів. У чисту колбу відважували 8,2 г NaCl х.ч., 2,3 г Na₂HPO₄ та 0,2 г NaH₂PO₄, доводили дистильованою водою до 1 л і розчиняли. рН розчину 7,2 – 7,4 (7,3);

градієнт густини фікол-верографіну готували наступним чином. У мірний циліндр відважували 9,5 г фіколу, розчиняли його теплою дистильованою водою в кількості 100 мл, додавали 20 мл верографіну 60 % концентрації. Відносну густину вимірювали за допомогою ареометра (1,077).

У якості маркерів для приготування індикаторної системи використовували еритроцити, які отримували з цільної дефібринованої крові барана. З осаду еритроцитів готували 0,5 % завись еритроцитів для визначення загальних ТЕ-лімфоцитів і 0,1 % і активних ТА-лімфоцитів.

Виділення лімфоцитів. Мононуклярну фракцію клітин виділяли з гепаринізованої крові коропів. Кров розводили забуференим фізіологічним розчином у співвідношенні 1:3. Розведену кров по стінці пробірки нашаровували на розчин фікол-верографіну і центрифугували протягом 20 хв при 1500 об/хв. Піпеткою відбирали верхній шар (плазму). Після цього шприцом з довгою голкою обережно відбирали білувате кільце мононуклеарних клітин у вигляді хмаринки на межі двох фракцій, переносили у чисту пробірку і тричі відмивали забуференим фізрозчином шляхом центрифугування при 1000 об/хв протягом 10 хв.

Визначення відносної кількості загальних лімфоцитів (ТЕ-РУЛ) проводили за допомогою методу спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана. Для цього, у пробірки вносили 0,1 мл чистих лімфоцитів, додавали 0,1 мл 0,5 % зависі еритроцитів кози. Суміш інкубували в термостаті впродовж 7 хв при температурі 25°C, центрифугували 5 хв при 1000 об/хв, ставили у холодильник на одну годину, після чого фіксували 0,1 мл 0,3 % розчину глютарового альдегіду протягом 10 хвилин. Зупиняли реакцію додаванням 0,4 мл дистильованої води, центрифугували 3 хв при 1000 об/хв, надосад відбирали, осад ресуспендували і робили мазок на предметному склі. Для приготування мазків використовували

чисті, знежирені у спирт-ефірі (1:1) предметні скельця. Мазки висушували, фіксували метанолом, фарбували 7–10 хвилин за Романовським-Гімза. Мікроскопію мазків проводили під імерсією при збільшенні 90х7. За Т-розеткоутворюючі лімфоцити приймали клітини, які приєднали до себе не менше трьох еритроцитів барана. При цьому розрізняли їх за кількістю приєднаних еритроцитів: нульові – які не приєднали еритроцити, малодиференційовані (низькоавідні) — які приєднали від 3 до 5 еритроцитів барана, середньоавідні – які приєднали 6–10 еритроцитів барана, високодиференційовані (високоавідні) – які приєднали більше 10 еритроцитів (морула).

Визначення відносної кількості активних лімфоцитів (ТА-РУЛ)

дозволяє виявити високоафінні рецептори до еритроцитів барана, які активно з'єднуються з ними без додаткової стимуляції. Для цього, у пробірки вносили 0,1 мл чистих лімфоцитів, додавали 0,1 мл 0,1 % зависі еритроцитів барана, центрифугували протягом 5 хвилин при 1000 об/хв, надосад відбирали, осад ресуспендували, після чого фіксували 0,1 мл 0,3 % розчину глютарового альдегіду протягом 10 хвилин. Зупиняли реакцію додаванням 0,4 мл дистильованої води, центрифугували 3 хв при 1000 об/хв, надосад відбирали, осад ресуспендували і робили мазок на предметному склі. Мікроскопію мазків проводили аналогічно.

Визначення відносної кількості теофілінрезистентних Т-хелперів [52]

ґрунтується на тому, що ці клітини несуть на своїй поверхні рецептори до імуноглобулінів класу М, а Т-супресори — до імуноглобулінів G. Хелперними вважають лімфоцити, які здатні формувати розетки після їх інкубації з теофіліном — це теофілінрезистентні клітини. Для цього готують 0,09 % розчин теофіліну на забуференому фізіологічному розчині.

У чисті сухі пробірки вносили 0,1 мл зависі чистих лімфоцитів, додавали 0,1 мл 0,09 % розчину теофіліну, інкубували протягом 30 хв при температурі 25°C, після чого двічі відмивали забуференим фізіологічним розчином протягом 10 хвилин. Відбирали надосад, осад ресуспендували, додавали 0,1 мл 0,5 % зависі еритроцитів барана, інкубували 7 хвилин при температурі 25°C, центрифугували 5 хвилин при 1000 об/хв. Пробірки ставили у холодильник на одну годину, після

чого фіксували 0,3 % розчином глютарового альдегіду, додаючи його у кількості 0,1 мл (10 хв.). Зупиняли фіксацію додаванням 0,4 мл дистильованої води, потім центрифугували 5 хв при 1000 об/хв, відбирали надосад, осад ресуспендували і робили мазок на предметному склі. Мікроскопію мазків проводили аналогічно.

Кількість теофілінчутливих лімфоцитів T-супресорів визначали за різницею, отриманою після віднімання із загальної кількості ТЕ–РУЛ кількості хелперів.

Дослідження відносної кількості В-лімфоцитів. Метод ідентифікації В-лімфоцитів ґрунтується на наявності в них мембранних імуноглобулінових рецепторів, що забезпечує приєднання до В-лімфоцитів індикаторних клітин, котрі на своїй поверхні містять комплекс-антиген-комплекс (ЕАС-РУЛ). У якості індикаторних клітин використовували еритроцити барана, сенсibiliзовані антитілами і комплексом. Для приготування комплексу використовували готову рідку гемолітичну сироватку (титр 1:1200) та готовий сухий комплекс морської свинки.

З метою отримання ЕАС-розеток на В-лімфоцитах, до 0,1 мл чистої суспензії лімфоцитів додавали 0,1 мл 1 % розчину еритроцитів барана, котрі містять на своїй поверхні комплекс імуноглобулін антитіло-комплекс. Суміш інкубували у термостаті впродовж 7 хвилин за температури 25° С, центрифугували при 1000 об/хв і ставили у холодильник на одну годину, після чого фіксували 0,3 % розчином глютарового альдегіду. Зупиняли фіксацію додаванням 0,4 мл дистильованої води, потім центрифугували 5 хв при 1000 об/хв, відбирали надосад, осад ресуспендували та робили мазок на предметному склі. Мікроскопію мазків проводили аналогічно.

Дослідження лізоцимної активності сироватки крові. Визначення лізоцимної активності у сироватці крові проводили нефелометричним методом за Дорофейчуком В. Г., 1968 [24]. Для цього з добової тест-культури, вирощеної на скошеному агарі, готували наважку на фосфорному буфері рН 7,2-7,4, яку стандартизували на ФЕКу при використанні зеленого світлофільтра в кюветах з робочою довжиною 3 мм. Світлопропускання вихідної наважки повинно скласти

20 %. До 1,47 мл приготованої мікробної наважки додавали 0,03 мл досліджуваної сироватки. Пробірки струшували та витримували в термостаті при 25°C впродовж години. Після цього пробірки знову струшували та проводили нефелометрію. Відсоток лізоцимної активності визначали шляхом вирахування відсотка світлопропускання вихідної мікробної наважки (20 %) з відсотка світлопропускання досліджуваної наважки.

Дослідження фагоцитарної активності крові. Фагоцитоз є головним механізмом природної резистентності та обов'язковою ланкою індукції та формування специфічної імунної відповіді. Фагоцитуючу роль виконують поліморфно-ядерні лейкоцити та моноядерні фагоцити (моноцити і макрофаги).

Фагоцитарну активність (ФА) визначали за методом Гостева В. С. [12] у модифікації. З цією метою 0,2 мл гепаринізованої крові вносили в пробірку та мікропіпеткою додавали стандартизовану до 2 млрд/мл завись добової культури. Вміст пробірок добре збовтували та ставили на водяну баню при температурі 25 °C на 30 хв. Потім готували мазки на предметних скельцях, висушували їх на повітрі та фарбували за методом Романовського-Гімза. У кожному мазку підраховували 100 нейтрофілів. Для повної характеристики фагоцитозу визначали фагоцитарну активність за кількістю активних лейкоцитів із 100 підрахованих і виражали у відсотках, фагоцитарний індекс – за кількістю фагоцитованих мікробних тіл, яка припадає на один активний нейтрофіл і характеризує поглинаючу здатність фагоцитів, фагоцитарне число за кількістю фагоцитованих мікробних тіл на 100 підрахованих нейтрофілів. Вираховували фагоцитарне число (ФЧ) і фагоцитарний індекс (ФІ) за формулами:

$$\text{ФІ} = \text{к-сть фагоц-х мікроорганізмів} / \text{ФА};$$

$$\text{ФЧ} = \text{к-сть фагот-х мікроорганізмів} / 100.$$

Фагоцитарна активність крові характеризує відсоток фагоцитуючих нейтрофілів. Фагоцитарний індекс характеризує кількість захоплених мікроорганізмів одним активним фагоцитом і характеризує „перетравлюючу здатність” сегментоядерних нейтрофілів. Фагоцитарне число виражає кількість фагоцитованих мікробних клітин на 100 підрахованих лейкоцитів.

Дослідження бактерицидної активності сироватки крові. Бактерицидну активність сироватки крові оцінювали фотонейфелометричним кюветним методом за Марковим Ю. М., 1968 [101]. Для цього з добової агарової культури бактерії змивали стерильним фізіологічним розчином, отриманий змив стандартизували за оптичним стандартом до 2 млрд. мікробних тіл в 1 мл. Після чого робили посів бактеріологічною петлею на м'ясо-пептонний бульйон (МПБ). Після посіву пробірки поміщали в термостат за температури 25°C на 24 години.

У якості поживного середовища при визначенні бактерицидної активності крові використовували бульйон Хоттінгера, що містив 200 мг % амінного азоту. Досліджувані сироватки зберігали при температурі 2-4°C і досліджували не пізніше 20-24 годин після взяття крові.

При дослідженні бактерицидної активності сироватки крові в стерильні кювети з робочою довжиною 10 мм заливали по 4,5 мл бульйону Хоттінгера і додавали по 0,5 мл досліджуваного матеріалу (дослідна кювета). У кожен дослідну кювету вносили по одній бактеріологічній петлі добової бульйонної культури. У контрольні кювети вносили ті ж компоненти, що і в дослідні, але замість сироватки додавали 0,5 мл фізіологічного розчину. Оптичну густину середовища в дослідних і контрольних кюветах визначали за допомогою ФЕК-56. Після цього пробірки поміщали в термостат за температури 25 °C. Повторне визначення оптичної густини проводили через 3, 5, 7, 9, 12 та 24 години. На основі даних оптичної густини вмісту дослідних і контрольних кювет визначали динаміку бактерицидної активності сироватки крові, відповідно вказаним проміжкам часу, а також повний бактерицидний ефект, що виражається одним значенням—середньою напруженістю бактерицидної активності (НБА).

Розрахунки робили наступним чином. Спочатку за формулою 1 визначали бактерицидну активність сироватки крові через прийняті проміжки часу:

$$A = 100 - \frac{D_{\text{дослідне через } t \text{ годин}} - D_{\text{дослідне зразу}}}{D_{\text{контрольне зразу}}} \cdot 100$$

$$D_{\text{дослідне через } t \text{ годин}} - D_{\text{контрольне зразу}}, \text{ де}$$

A — бактерицидна активність (%);

D — дослідна густина;

t—час експозиції кювет в термостаті в годинах.

Потім визначали середню напруженість бактерицидної активності (НБА) за формулою 2:

$$\text{Середня НБА} = \frac{A_n \cdot T_n}{T_n} = \frac{A_1 T_1 + A_2 T_2 + A_3 T_3 \dots A_n T_n}{T_n} \quad 2$$

$$T_n = T_1 + T_2 + T_3 + \dots T_n, \text{ де}$$

середня НБА — середня напруженість бактерицидної активності сироватки крові (%);

$T_1, T_2, T_3 \dots T_n$ — тривалість термостатування в годинах.

Визначення циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові [12]. Цей метод ґрунтується на преципітації великих глобулярних імунних комплексів, що знаходяться у сироватці крові високомолекулярним поліетиленгліколем (ПЕГ) з молекулярною масою 6000 Да. Готуємо 2 пробірки: дослідну і контрольну. В контрольну вносять 0,3 мл боратного буферу (ББ) і 0,15 мл досліджуваної сироватки, ретельно перемішуємо вміст пробірки і по 0,22 мл. Сюди ж, у дослідну пробірку, додаємо 2 мл поліетиленгліколю. Ретельно перемішуємо, інкубуємо протягом 1 год. При кімнатній температурі і фотометруємо. Вираховуємо різницю показників оптичної густини (ОГ) і результат перемножуємо на 1000 та одержуємо вміст імунних комплексів у 100 мл сироватки крові.

2.3. Методи визначення біохімічних показників

Визначення вмісту розчинних білків. Концентрацію загального білка у сироватці крові визначали спектрофотометрично за методом Лоурі [12]. Суть методу полягає в утворенні кольорових продуктів у результаті реакції ароматичних амінокислот з реактивом Фоліна-Чекальтеу в поєднанні з біуретовою реакцією.

Визначення вмісту гідропероксидів ліпідів у плазмі і гомогенаті. Вміст гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) у крові та гомогенатах визначали за методом, описаним В. В. Мирончиком [3]. Принцип базується на осадженні білків, яке здійснюється трихлороцтовою кислотою (ТХО) з додаванням у середовище тіоціанату амонію. До 0,2 мл плазми крові або гомогенату тканин додавали 2,8 мл етанолу і 0,05 мл 50 % розчину ТХО. Закривали корками і струшували 5 хв. Потім центрифугували 10 хв при 3000 об/хв. Одержаного супернатанту відбирали 1,5 мл і додавали 1,2 мл етанолу, струшували, потім додавали 0,02 мл HCl, 0,03 мл 1 % розчину солі Мора, струшували і через 30 с додавали 0,2 мл 20 % розчину тіоціанату амонію. Вимірювання оптичної густини проводили протягом 10 хв після додавання тіоціанату амонію на спектрофотометрі при довжині хвилі 480 нм.

$$\Delta D_{480} (\text{ГПЛ}) = D_{480} (\text{Д}) - D_{480} (\text{К})$$

Дослідження вмісту ТБК-активних продуктів – малонового діальдегіду в плазмі та гомогенаті тканин. Концентрацію малонового діальдегіду (МДА) визначали за методом Коробейникової С. Н. (1989) [35]. В основі методу лежить реакція між малоновим діальдегідом (МДА) і тіобарбітуровою кислотою (ТБК), яка при високій температурі і кислому середовищі протікає з утворенням триметилового комплексу, що містить 1 молекулу МДА і 2 молекулу ТБК.

До 1 мл плазми крові або гомогенату тканин додавали 4,5 мл 20 % розчин фосфорновольфрамової кислоти і, заклавши пробірки корками, перемішуємо, залишаємо на холоді 15 хв. Центрифугували при 3000 об/хв впродовж 15 хв. Надосадову рідину зливали, а до осаду додавали 1,0 мл 0,8 % розчину тіобарбітурової кислоти, після чого проводили інкубацію впродовж 1 години на водяній бані за температури 100°C. Охолоджували у воді з водопроводу та центрифугували впродовж 10 хв при 6000 об/хв. Оптичну густину вимірювали на спектрофотометрі при довжинах 535 нм і 580 нм.

Концентрацію МДА визначали використовуючи коефіцієнт молярної екстинції 0,156 мкМ/ см і виражали її в нмоль/мл (або г) за формулою:

$$C = 0,21 + 26,5 \times \Delta D, \text{ де}$$

C – концентрація ТБК-активних продуктів;

ΔD – оптична густина $D_{535} - D_{580}$.

Визначення супероксиддисмутазної активності в еритроцитах крові та гомогенатах тканин проводили за методом, описаним Є. Є. Дубиніною (1983 р.) [26] в основі якого лежить відновлення нітротетразолію супероксидними радикалами, які утворюються в реакції між феназинметасульфатом і відновленою формою нікотинаміддинуклеотидом (NADH). До 0,2 мл досліджуваної рідини додавали 1,8 буфера тріс- HCl, потім 0,5 мл етанолу і 0,3 мл хлороформу. 15 хв перемішували склянною паличкою і 15 хв центрифували при 7-8 тис. об/хв. Відбирали супернатант і слідували наступною схемою: 2,4 мл 0,15 М фосфатного буфера, рН 7,8, а далі по 0,1 мл розчину ЕДТА, розчину желатину, розчину феназинметасульфату, розчину нітротетразолію і також 0,1 мл розчину NADH. Інкубували 20 хв при кімнатній температурі в темному місці. Оптичну густина вимірювали на спектрофотометрі при $\lambda = 540$. Активність визначали за формулою:

$$A = \frac{E_k - E_d}{m} \times P, \text{ де}$$

A – активність СОД в у. од./мг білка;

E_k – екстинція контрольного зразка;

E_d – екстинція дослідного зразка;

m – маса білка в 0,1 мл досліджуваної рідини;

P – розведення.

Дослідження глутатіонпероксидазної активності в еритроцитах крові та гомогенатах тканин. Активність глутатіонпероксидази (ГПО) визначали за методом В. М. Моина [59]. Мірою активності глутатіонпероксидази є швидкість окислення глутатіону в присутності гідропероксиду третинного бутилу. Суть методу полягає у розвитку кольорової реакції з 5,5-дітіобіс-2-нітробензойною кислотою (ДТНБК) з утворенням кольорового продукту тіонітрофенільного аніону (ТНФА). Кількість останнього відповідає кількості SH-груп, які прореагували з ДТНБК.

Для визначення глутатіонпероксидазної активності 0,2 мл досліджуваної рідини інкубували на водяній бані при 25°C 10 хв з 0,85 мл 4,8 мМ розчину відновленого глутатіону (GSH), який був приготовлений на буфері 0,1 М трис-НСІ рН 8,5, що містив 6 мМ ЕДТА і 12 мМ розчин азиду натрію. Потім додавали 0,05 мл 20 мМ розчину гідропероксиду третинного бутилу та інкубували 5 хвилин. Реакцію зупиняли додаванням 0,4 мл 10 % розчину трихлороцтової кислоти. Проби центрифугували 10 хвилин при 7 тис. об/хв. Потім 0,1 мл супернатанту вносили 5 мл 0,1 М розчину трис-НСІ рН 8,5 і додавали 0,1 мл реактиву Елмана. Через 5 хв визначали оптичну густину проб на спектрофотометрі при $\lambda=412$ нм проти H_2O . Активність ферменту виражали в мкмоль GSH/мг білка за 1 хвилину і вираховували за формулою:

$$A = \frac{E_k - E_d}{E_{\text{ст}} \times V \times t \times B} \times 4,08 \times P, \text{ де}$$

A – активність ГПО в мкмоль GSH/мг білка за 1 хв;

E_k – екстинція контрольного зразка, в який вносили воду, а не гідропероксид третинного бутилу;

E_d – екстинція дослідного зразка;

$E_{\text{ст}}$ – екстинція стандартного зразка, в який вносили воду, а не дослідну рідину;

V – об'єм зразка, мл;

t – час інкубації, хв;

B – кількість білка, мг/мл досліджуваної рідини;

P – розведення.

Визначення каталазної активності в сироватці крові та гомогенатах тканин. Принцип методу базується на здатності пероксиду водню утворювати з солями молібдату стійкий кольоровий комплекс [53]. До 0,1 мл досліджуваної рідини додавали 2 мл H_2O_2 , в холостій пробі додавали 0,1 мл дистильованої води. Після 10 хв проведення реакції додаємо 1 мл 4 % молібдату амонію, і через 5 хв в пробірку вносили 0,5 мл 30 % ТХО. Інтенсивність забарвлення досліджуємо,

вимірюючи її на спектрофотометрі при $\lambda=410$ нм проти зразка, де додавали дистильовану воду. Результати визначали за формулою:

$$A = \frac{E_{\text{хол}} - E_{\text{д}}}{t \times V \times K \times B} \times P, \text{ де}$$

A – активність КАТ в ммоль H_2O_2 /мг білка за 1 хв;

$E_{\text{хол}}$ – екстинція холостого зразка;

$E_{\text{д}}$ – екстинція дослідного зразка;

V – об'єм зразка, мл;

t – час інкубації, хв;

K – коефіцієнт мілімолярної екстинції пероксиду водню, який дорівнює $22,2 \cdot 10^3 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$;

B – кількість білка, мг/мл досліджуваної рідини;

P – розведення.

Визначення концентрації гемоглобіну. Концентрацію гемоглобіну проводили ціанметгемоглобіновим методом. за методичними рекомендаціями Сельвестров В. В, (1999) [52]. У пробірку вносили 5 мл трансформуючого розчину Драбкіна та додавали 20 мкл цільної крові. Пробірку старанно перемішували та залишали у холодильнику на 20 хвилин.

Оптичну густину отриманого розчину визначали на спектрофотометрі при 540 нм проти трансформуючого розчину. Обчислення концентрації гемоглобіну проводили за формулою:

$$x = d_{540} \times 367,1 \text{ г / л,}$$

де: d_{540} - свідчення ФЕК; 367,1 - коефіцієнт перерахунку, що враховує розведення крові.

Середня концентрація гемоглобіну в еритроцитах (СКГЕ).

Вираховували шляхом ділення кількості гемоглобіну на величину гематокриту.

Для цього використовували формулу:

$$\text{СКГЕ (г/100мл)} = \text{гемоглобін} \cdot \text{гематокрит (\%)}$$

Визначення кількості еритроцитів [52]. Градуйованою піпеткою в хімічну пробірку наливали 4 мл розчину Хендрікса (Сульфат натрію – 20 г, хлористий

натрій - 5 г, цитрат натрію тризаміщені – 3 г, крижана оцтова кислота – 100 мл, вода дистильована до 1000 мл). У капілярну піпетку від гемометра Салі набирали кров до мітки 20 мкл і видували у пробірку, обережно промиваючи капіляр кілька разів. Покривне скло притирали до камери Горяєва до появи ньютонівських кілець. Вміст пробірки ретельно перемішували і пастерівською піпеткою заповнювали камеру Горяєва. Через 1-2 хвилини починали підрахунок числа еритроцитів під мікроскопом в 5 великих або 80 малих квадратах, розташованих по діагоналі. Для визначення кількості еритроцитів в 1 мкл досить помножити отримане при підрахунку кількість еритроцитів на 10000.

Визначення колірного показника (КП). Колірний показник — це насиченість еритроцитів гемоглобіном у хворої тварини, порівняно з середнім показником у здорової тварини окремого виду. Розрахунок колірного показника проводили за формулою:

$$\text{КП} = \frac{\text{ДВГ} \cdot \text{СКЕ}}{\text{СВГ} \cdot \text{ДКЕ}},$$

де:

КП — колірний показник;

ДВГ — кількість гемоглобіну у досліджуваної тварини, г/100мл, г/л;

СВГ — середня кількість гемоглобіну в даного виду тварин, г/100мл, г/л;

СКЕ — середня кількість еритроцитів у даного виду тварин, млн/мкл; Т/л;

ДКЕ — загальна кількість еритроцитів у досліджуваної тварини, млн/мкл; Т/л.

Середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті (ВГЕ). Середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті вказує на насичення еритроцита гемоглобіном. Показник вираховували за формулою:

$$\text{ВГЕ} = \text{гемоглобін (г/л)} : \text{еритроцити (Т/л)}.$$

Визначення середнього об'єму еритроцита (СОЕ). Середній об'єм одного еритроцита вираховували шляхом ділення гематокриту на кількість еритроцитів. При цьому використовували формулу:

$$\text{СОЕ} = \text{гематокрит} \cdot 10 : \text{кількість еритроцитів (Т/л)}$$

Дослідження гематокриту. Попередньо оброблений антикоагулянт (гепарин — 5000 од/мл, розводили дистильованою водою в співвідношенні 1:5) і висушений капіляр заповнюють кров'ю на 7/8 довжини. Закупорювали капіляр з одного кінця спеціальною пастою (можна пластиліном). Поміщали в ротор центрифуги так, щоб закупорені кінці впирались в гумову прокладку і центрифугують 5 хв. при 8000 об/хв.

Визначення рівня відновленого глутатіону в еритроцитах [54]. Вміст відновленого глутатіону (GSH) визначали за рівнем утворення тіонітрофенільного аніону в результаті взаємодії SH – груп глутатіону з 5,5-дитіобіс,2-нітробензойною кислотою.

Готували дослідну і контрольну проби. У контрольну давали 3 мл осаджуючого реактиву і 2 мл дистильованої води. У дослідну пробу дають 2 мл гемолізату еритроцитів, розведених у 10 разів, і 3 мл осаджуючого реактиву. Витримували 5 хв при кімнатній температурі і центрифугували при 3500 об/хв, після чого фільтрують надосадову рідину. Після цього знову формують дослідну і контрольну проби, в які вносять 2 мл центрифугату, 8 мл 0,3 М Na_2HPO_4 і 0,1 мл реактиву Елмана. Через 5 хв спекрофотометрували проти контролю при довжині хвилі 412 нм.

Розрахунок кількості GSH в еритроцитах у мМ/л проводили за допомогою калібрувальної кривої.

Визначення концентрації Селену та Цинку у органах і тканинах коропових риб методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії . В основі цього методу лежить явище селективного поглинання світлової енергії вільними незбудженими атомами елемента. По величині оптичної щільності поглинаючого шару судять про концентрацію в ньому елементу, який визначається [85].

Підготовку зразків гепатопанкреасу та скелетних м'язів риб проводили методом мокрого озолення з використанням мікрохвильової системи Milestone Start D. Озолення у вказаній системі дозволяє уникнути втрат летких елементів, таких

як селен, при пробопідготовці. Дана методика ґрунтується на робочій інструкції до приладу.

Порядок підготовки зразків полягає у наступному. У спеціальний стакан, виготовлений з високоякісного пластику, переносять 1-2 гр. досліджуваних тканин, зважуючи їх з точністю до 4-го знаку після коми. Після цього під витяжною шафою до зразка додають 3 мл бідистильованої води та 6 мл концентрованої (65%) азотної кислоти. Стакан накривають кришкою з тефлону, на кришку встановлюють запобіжну пружину, та поміщають стакан у захисний кожух. Кожух зі стаканом встановлюють у ротор мікрохвильової системи, та закручують гвинт ротора до появи характерного клацання. Ротори зі зразками симетрично встановлюють у мікрохвильову систему, та запускають відповідну програму.

Після озолення, яке триває близько 1 год., дістають ротори та дають їм охолонути 1-2 год. Під витяжкою обережно відкручують гвинт ротора, та виймають стакан зі зразком. Обережно знімають кришку зі стакана. Крапельки кислоти з розчиненим зразком кількісно переносять за допомогою лійки у пробірку, ополіскуючи бідистильованою водою (загальний об'єм 2 мл) з дозатора. Після фільтрування через спеціальний фільтр та, за необхідності, розведення розчином азотної кислоти (щоби концентрація елемента, який визначається, знаходилося в оптимальному для виміру інтервалі – в 20-200 раз більше нижньої межі виявлення), зразки готові до досліджень.

Одержані цифрові дані опрацьовано статистично з використанням програмного пакету Microsoft Excel для персональних комп'ютерів, за допомогою загальноприйнятих методів варіаційної статистики з визначенням середніх величин (M), їх квадратичної похибки (m) та достовірності різниць, які встановлювали за t -критерієм Стюдента.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Сезонні особливості системи антиоксидантного захисту й імунного потенціалу у коропа рамчастого, коропа лускатого і сазана

Інтенсивність росту риб і стійкість їх до захворювань генетично детерміновані та значною мірою залежать від дії сезонних чинників, які суттєво впливають на обмін речовин в їхньому організмі [43, 214]. Впродовж річного циклу вирощування риби витримують значні зміни температури навколишнього середовища і вмісту кисню у воді [43, 250]. Це, в свою чергу, впливає на стан метаболізму в їхньому організмі. Зокрема інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів і активність системи антиоксидантного захисту у риб зазнає змін упродовж року [43].

Найбільш актуальними проблемами при вирощуванні коропів є необхідність підвищення їхньої адаптації до факторів середовища та всебічне вивчення біологічних особливостей [17].

Проте наявні в літературі дані такого плану фрагментарні, а повідомлень щодо динаміки пероксидних процесів, стану ензимної ланки САЗ та імунобіологічної реактивності у різних порід коропових риб упродовж річного циклу вирощування практично немає. Проведення таких досліджень є доцільним і важливим для виявлення фізіолого-біохімічних особливостей у функціонуванні вказаних систем. Так, наприклад в організмі амурського сазана наявні суттєві відмінності в загальному обміні речовин, зокрема в інтенсивності процесів дихання залежно від різних факторів навколишнього середовища порівняно із іншими представниками коропових риб [37].

З огляду на це, мета досліджень полягала у комплексному вивченні процесів ПОЛ, активності ензимів антиоксидантної системи та показників клітинної і

гуморальної ланки імунного захисту в організмі любінського рамчастого та лускатого коропів і сазана у різні пори року.

3.1.1. Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів та активність ензимів системи антиоксидантного захисту у крові корошових риб за дії сезонних факторів. З наведених у таблиці 3.1 і 3.2 даних бачимо, що інтенсивність пероксидних процесів й активність ензимної ланки САЗ у крові корошових риб значно змінюється впродовж року, що свідчить про залежність цих процесів від порідних характеристик і сезонних факторів.

Таблиця 3.1

**Сезонна динаміка вмісту продуктів ПОЛ у плазмі крові досліджуваних риб
($M \pm m$, $n=5$)**

Показники	Періоди досліджень	Породи риб		
		Лускатий короп	Рамчастий короп	Сазан
ТБК, мкмоль/л	Весна (контр.)	$2,28 \pm 0,05$	$1,60 \pm 0,13^{***}$	$2,47 \pm 0,06^*$
	Літо	$2,42 \pm 0,14$	$2,19 \pm 0,07^{\circ\circ}$	$2,42 \pm 0,05$
	Осінь	$3,53 \pm 0,13^{\circ\circ\circ}$	$2,29 \pm 0,04^{***\circ\circ\circ}$	$3,72 \pm 0,14^{\circ\circ\circ}$
ГПЛ, од.Е/мл	Весна (контр.)	$1,24 \pm 0,02$	$1,26 \pm 0,04$	$1,24 \pm 0,02$
	Літо	$0,62 \pm 0,01^{\circ\circ\circ}$	$0,63 \pm 0,01^{\circ\circ\circ}$	$0,87 \pm 0,02^{***\circ\circ\circ}$
	Осінь	$1,74 \pm 0,11^{\circ\circ}$	$1,32 \pm 0,05^{**}$	$1,86 \pm 0,06^{\circ\circ\circ}$

Примітка. У цій і наступних таблицях цього розділу:

*— $p < 0,05$; **— $p < 0,01$; ***— $p < 0,001$ — вірогідні різниці показників рамчастого коропа та сазана до показників лускатого коропа;

$^{\circ}$ — $p < 0,05$; $^{\circ\circ}$ — $p < 0,01$; $^{\circ\circ\circ}$ — $p < 0,001$ — вірогідні різниці показників у корошових риб літнього та осіннього періодів порівняно до весняного періоду досліджень.

Зокрема, вміст проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ у крові лускатих та рамчастих корошових і сазана в осінній період (жовтень) значно більший, ніж у весняний (травень) період досліджень ($p < 0,01$ – $0,001$). При цьому необхідно зауважити, що вміст гідропероксидів ліпідів, які утворюються на проміжній стадії

пероксидного окиснення ліпідів, у плазмі крові досліджуваних видів риб у літній (серпень) період менший, ніж у весняний ($p < 0,001$) і, особливо, осінній періоди. Отримані дані свідчать про значне посилення пероксидних процесів у організмі риб у осінній період, що очевидно зумовлено температурними факторами та виявленим значним зниженням ($p < 0,01-0,001$) глутатіонпероксидазної і супероксиддисмутазної активностей у крові досліджуваних риб. Високий вміст ГПЛ і ТБК-активних продуктів у плазмі крові риб в осінній період також можна пояснити збільшенням кількості поліненасичених жирних кислот, які ініціюють пероксидне окиснення ліпідів у ліпідах клітинних мембран в умовах зниження температури навколишнього середовища [161].

Дослідження порідних особливостей пероксидних процесів у риб показали (табл. 3.1), що 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 до лускатих коропів виявлено вірогідно більший вміст ТБК-активних продуктів у весняний і гідропероксидів ліпідів у літній періоди досліджень. Різниця у вмісті продуктів ПОЛ у досліджуваних риб може бути зумовлена вмістом ПНЖК у ліпідах тіла прісноводних риб і у ліпідах кормів, що вони споживають.

Як відомо, глутатіонова система є важливою ланкою антиоксидантного захисту організму. Глутатіонпероксидаза у клітинах відновлює пероксид гідрогену та гідропероксиди органічних молекул до відповідних сполук. Цей процес відбувається з використанням відновленого глутатіону. Прямий захисний ефект глутатіонпероксидази призводить до підвищення стійкості організму до стресових факторів, а індуковане цим ензимом збільшення вмісту окисненої форми глутатіону в клітині є сигналом для активації подальших захисних механізмів [21, 161].

Активність ензимів антиоксидантної системи у крові досліджуваних коропових риб також значно змінювалася впродовж річного циклу вирощування, що зумовлено дією сезонних чинників (табл. 3.2). Так, як вже зазначалося, супероксиддисмутаза і глутатіонпероксидазна активності у крові коропа

рамчастого, коропа лускатого і сазана в осінній і літній періоди у 4–5 разів ($p < 0,01 - 0,001$) нижча, ніж у весняний період.

Таблиця 3.2

**Сезонна динаміка вмісту відновленого глутатіону й активності
антиоксидантних ензимів у крові досліджуваних риб ($M \pm m$, $n=5$)**

Показники	Періоди досліджень	Породи риб		
		Лускатий коропа (контр.)	Рамчастий коропа	Сазан
СОД, у.о./мг білка	Весна (контр.)	$3,37 \pm 0,18$	$4,28 \pm 0,22^*$	$3,21 \pm 0,18$
	Літо	$1,35 \pm 0,09^{ooo}$	$1,14 \pm 0,11^{ooo}$	$1,57 \pm 0,16^{ooo}$
	Осінь	$0,88 \pm 0,04^{ooo}$	$0,97 \pm 0,03^{ooo}$	$0,65 \pm 0,04^{** ooo}$
ГП, мкмоль GSH/мг білка хв	Весна (контр.)	$5,19 \pm 0,23$	$7,20 \pm 0,31^{***}$	$6,73 \pm 0,23^{***}$
	Літо	$1,19 \pm 0,05^{ooo}$	$2,44 \pm 0,16^{***ooo}$	$1,37 \pm 0,05^{*ooo}$
	Осінь	$1,16 \pm 0,06^{ooo}$	$1,44 \pm 0,04^{***ooo}$	$1,31 \pm 0,04^{ooo}$
ВГ, МкМоль/мл	Весна (контр.)	$0,43 \pm 0,036$	$0,36 \pm 0,04$	$0,46 \pm 0,02$
	Літо	$1,86 \pm 0,14^{ooo}$	$1,71 \pm 0,04^{ooo}$	$2,36 \pm 0,18^{ooo}$
	Осінь	$1,53 \pm 0,06^{ooo}$	$1,28 \pm 0,03^{** ooo}$	$1,91 \pm 0,12^{* ooo}$
Каталаза, ммоль H ₂ O ₂ /мг білка хв. $\times 10^{-7}$	Весна (контр.)	$1,45 \pm 0,05$	$0,82 \pm 0,03^{***}$	$1,25 \pm 0,03^{**}$
	Літо	$5,50 \pm 0,12^{ooo}$	$4,12 \pm 0,06^{***ooo}$	$4,14 \pm 0,13^{***ooo}$
	Осінь	$6,48 \pm 0,17^{ooo}$	$5,16 \pm 0,13^{***ooo}$	$5,53 \pm 0,06^{*** ooo}$

Ці дані свідчать про обернену залежність між змінами вмісту продуктів ПОЛ і активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази. Останні є ключовими ензимами антиоксидантної системи у крові коропа і сазана впродовж річного циклу вирощування. Ймовірною причиною зростання активності антиокисних ензимів (супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази) у крові коропа і сазана у весняний період досліджень можна пояснити настанням сезону відносної гіпероксигенації після зимової перетримки у риб, що призводить до адаптивного збільшення активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази, що підтверджують результати інших досліджень [21].

Таким чином можна констатувати, що виявлене нами збільшення вмісту продуктів ПОЛ у крові досліджуваних видів риб в осінній період зумовлено зниженням активності ключових ензимів антиоксидантної системи – СОД і ГП. Причиною цього може бути зменшення субстратного забезпечення синтезу білків у печінці риб зі зниженням температури у цей період [275] і зменшення у гіпофізі продукції мелатоніну, який проявляє модулювальний вплив на синтез ензимів антиоксидантної системи у різних тварин [124].

На відміну від СОД і ГП, каталазна активність у плазмі крові досліджуваних ставових риб у літній і, особливо, осінній періоди значно вища, ніж у весняний ($p < 0,001$). При цьому також у плазмі крові досліджуваних особин у літній та осінній періоди порівняно до весняного зафіксовано у 3-5 разів більший ($p < 0,001$) вміст відновленого глутатіону. Результати цих досліджень свідчать про протилежні за напрямом зміни каталазної активності та вмісту відновленого глутатіону у літній і осінній періоди, порівняно зі змінами характерними у весняний. Ці зміни можна пояснити тим, що за дії стресових факторів у весняний період в організмі риб активуються вільнорадикальні процеси, що призводять до генерації ендogenousного кисню, утворення якого каталізується каталазою і компенсує нестачу Оксигену в організмі риб за умов гіпоксії [50].

Отже, результати проведених досліджень показали, що особливістю функціонування САЗ у крові коропових риб є сезонна зміна у її активності, що є проявом адаптаційного механізму організму риб до кисневого режиму водойми,

зниження кормової активності та зміни вихідних субстратів окиснення. Водночас, як свідчать отримані дані ці процеси у корошових риб значною мірою залежать від порідних характеристик.

3.1.2. Вплив сезонних факторів на гематологічний профіль корошових риб. Відомо, що лейкоцити крові коропа рамчастого, коропа лускатого і сазана представлені різновидними за структурною організацією клітинами: нейтрофілами, еозинофілами, базофілами, моноцитами та лімфоцитами. В основному, лейкоцити крові досліджуваних нами риб містять лімфоцити, частка яких складає близько 83–85 % клітин від загальної кількості. Водночас, характерною особливістю крові риб є те, що в них у периферичній крові поряд із зрілими лейкоцитами знаходяться і молоді форми лейкоцитів, які відрізняються за величиною, формою і будовою ядер, за розміром цитоплазми і наявністю в них зернистості, за здатністю зафарбовуватися кислими та основними барвниками.

Як показали результати проведених досліджень (табл.3.3) кількість лейкоцитів та співвідношення їх окремих форм у крові досліджуваних риб значно змінювалася в залежності від сезонних факторів. Так, кількість лейкоцитів у крові коропа рамчастого, лускатого і сазана на початку літнього і, особливо осіннього періоду досліджень була відповідно на 21,9 ($p<0,001$), 18,2 ($p<0,01$) і 13,9 % ($p<0,01$) вища, ніж на початку весняного.

При дослідженні окремих форм лейкоцитів звертає на себе увагу вірогідно більша кількість лімфоцитів і менша моноцитів і сегментоядерних нейтрофілів у крові досліджуваних особин у літній і осінній періоди порівняно до весняного. Зокрема, кількість лімфоцитів у крові коропа рамчастого, коропа лускатого і сазана на початку осені була відповідно на 8,8 ($p<0,001$), 5,1 ($p<0,05$) і 8,1 % ($p<0,01$) вища, а кількість моноцитів і сегментоядерних нейтрофілів у 2,0–4,1 разу ($p<0,05$ – $0,001$) нижча, ніж у весняний період досліджень.

Кількість базофілів у крові риб навесні і влітку не змінювалася, однак, на початку осені зафіксовано відсутність еозинофілів. Цей факт співпадає з результатами досліджень інших авторів [4, 5]. При цьому у крові рамчастих корошів

у літній період кількість еозинофілів була більша ($p < 0,001$), ніж навесні.

Таблиця 3.3

**Сезонна динаміка лейкоцитарного профілю крові корокових риб
($M \pm m$; $n=5$)**

Показники		Періоди досліджень	Породи риб		
			Лускатий короп (контр.)	Рамчастий короп	Сазан
1		2	3	4	5
Лейкоцити, Г/л		Весна (контр.)	21,0±0,70	19,8±0,66	21,6±0,92
		Літо	23,0±0,57	20,33±0,66*	22,6±0,66
		Осінь	25,6±0,50 ^{ooo}	23,4±0,50 ^{oo}	24,6±1,02 ^{oo}
Базофіли		Весна (контр.)	1,5±0,50	1,2±0,58	1,7±0,58
		Літо	2,4±0.4	1,9±0,33	1,6±0,57
		Осінь	1,2±0.58	1,0±0,57	1,1±0,37
Еозинофіли		Весна (контр.)	1,6±0,50	1,0±0,31	1.8±0,37
		Літо	1,6±0,30	2,1±0,01 ^{oo}	1.1±0,30
		Осінь	—	—	—
Нейтрофіли	Паличко-ядерні	Весна (контр.)	3,8±0,48	3,0±0,70	3,8±0,37
		Літо	4,0±0,57	3,9±0,57	3,66±1,20
		Осінь	1,8±0,44 ^o	2,6±0,67	2,0±0,80
	Сегменто-ядерні	Весна (контр.)	4,6±0,67	4,2±0,67	4,0±0,54
		Літо	4,7±0,66	4,0±0,57	4,7±1,45
		Осінь	1,0±0,31 ^{oo}	2,6±0,50	1,0±0,30 ^{oo}
Лімфоцити		Весна (контр)	83,2±0,66	85,0±0,70	84.2±0,86

	Літо	84,0±1,15	85,0±1,15	86,1±0,57
	Осінь	92,0±0,94 ^{ooo}	90,1±1,51 ^o	92,3±0,86 ^{oo}
1	2	3	4	5
Моноцити	Весна (контр)	5,2±0,50	5,6±0,60	4,4±0,51
	Літо	2,1±0,51 ^{oo}	2,5±0,5 ^{oo}	2,4±0,30 ^{oo}
	Осінь	3,2±0,58 ^o	2,3±0,66 ^{ooo}	4,2±0,58 ^{oo}
Метамієлоцити	Весна (контр.)	—	—	—
	Літо	0,6±0,2	0,3±0,1	0,3±0,2
	Осінь	0,8±0,37	1,4±0,4	1,3±0,48
Мієлоцити	Весна (контр.)	—	—	—
	Літо	0,3±0,3	0,3±0,3	0,3±0,3
	Осінь	—	—	—

Стосовно породних особливостей морфологічного складу лейкоцитів крові досліджуваних особин необхідно зауважити, що істотних різниць у кількості лейкоцитів та співвідношенні їх окремих форм у крові коропа рамчастого, коропа лускатого і сазана не констатовано. Лише у літній період кількість лейкоцитів у крові коропа рамчастого була менша ($p < 0,001$), ніж у крові коропа лускатого.

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про значний вплив сезонних факторів на кількість лейкоцитів та співвідношення їх окремих форм у крові коропа рамчастого, коропа лускатого і сазана. Зокрема констатовано, що кількість лейкоцитів і лімфоцитів у крові риб у літній і осінній періоди була більша, а кількість моноцитів і сегментоядерних нейтрофілів — менша, ніж у весняний період досліджень. Ці зміни у лейкограмі риб у вказані періоди досліджень можна пояснити зростанням температури навколишнього середовища, що призводить до збільшення споживання рибами Оксигену, підвищення рівня метаболізму в їх

тканинах та посилення антигенного навантаження на організм [225], що суттєво впливає на імунну функцію у риб. Як правило, кількість лейкоцитів зростає в теплий період року і знижується взимку, але в деяких риб (окунь, йорж, миньок) кількість лейкоцитів у цей період збільшується. Зростання кількості лейкоцитів і лімфоцитів у крові риб у літній і осінній періоди ймовірно обумовлено необхідністю підвищити захисні функції крові, тому що навколишнє середовище багате хвороботворними організмами. Адже лімфоцити є зрілими високодиференційованими клітинами крові, основна функція яких полягає у підтриманні імунологічного гомеостазу організму. Водночас отримані дані свідчать про імуносупресивний вплив сезонних чинників у літній та осінній період на клітинну ланку неспецифічної резистентності організму риб. Про що вказує менша кількість моноцитів і сегментоядерних нейтрофілів у крові досліджуваних риб. Зниження числа лімфоцитів пов'язане із зниженням імунітету весною, коли слабшає імунна система, кількість клітин зменшується [251].

Проведені дослідження показали, що гематологічний профіль у досліджуваних корокових риб упродовж річного циклу вирощування значною мірою залежать від сезонних чинників. Як бачимо з даних, наведених у таблиці 3.4, кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну, гематокритна величина та середня концентрація гемоглобіну в еритроциті у крові коропа лускатого, коропа рамчастого та сазана у літній період і, особливо, в осінній значно більша ($p < 0,05 - 0,001$), ніж у весняний період.

Отримані результати досліджень свідчать про значне зниження кисневотраспортної функції крові у риб у зимовий і на початку весняного періодів, порівняно з літнім і осіннім періодами.

Таблиця 3.4

**Гематологічні показники та вміст загального білка у сироватці крові
коропових риб ($M \pm m$; $n=5$)**

Показники	Періоди досліджень	Породи риб		
		Лускатий короп (контр)	Рамчастий короп	Сазан
Білок, г/л	Весна (контр.)	21,35±0,29	19,98±0,27**	21,70±0,21
	Літо	32,66±0,31 ^{ooo}	32,3±0,43 ^{ooo}	34,1±0,61 ^{ooo}
	Осінь	23,35±2,75	22,67±1,57	28,97±1,30 ^{ooo}
Гемоглобін, г/л	Весна (контр)	61,3±2,3	62,7±2,6	66,7±3,1
	Літо	79,9±1,6 ^{ooo}	77,1±1,34 ^{ooo}	80,8±1,9 ^{oo}
	Осінь	91,04±1,5 ^{ooo}	90,8±1,9 ^{ooo}	96,7±2,4 ^{ooo}
Гематокрит, %	Весна (контр)	21,4±1,28	21,2±0,9	24±1,22
	Літо	21,0±0,5	20,4±0,5	22,4±0,5
	Осінь	27,9±0,4 ^{ooo}	29,7±1,3 ^{ooo}	24,9±1,6
Еритроцити, Т/л	Весна (контр)	2,0±0,3	2,2±0,2	2,26±0,2
	Літо	2,0 ±0,3	2,26±0,15	2,32,5±0,2°
	Осінь	2,04±0,1	2,4±0,3	2,7±0,2*

Про це також вказують вищі індекси крові (колірний показник, середня концентрація гемоглобіну в еритроциті та кількість гемоглобіну в одному еритроциті) у досліджуваних риб у літній період ($p < 0,05 - 0,001$) порівняно з весняним (табл. 3.5).

Як відомо чутливість риб до змін температури води також пов'язана з властивостями гемоглобіну: при підвищенні температури води потреба організму в кисні збільшується, але здатність гемоглобіну зв'язувати його знижується.

Таблиця 3.5

Індекси крові корокових риб ($M \pm m$; $n=5$)

Показники	Періоди	Породи риб		
		Лускатий короп (контр.)	Рамчастий короп	Сазан
КП	Весна (контр.)	0,68±0,1	0,59±6,7	0,6±3,5
	Літо	1,10±0,14°	0,8±0,04	1,14±0,15
	Осінь	0,9±6,07	0,8±0,11	0,74±7,09
СКГЕ ммоль/л	Весна(контр)	290,3±18,9	298,3±18,8	281,9±23,01
	Літо	380,9±5,08 ^{ooo}	378,3±7,4 ^{oo}	369,4±17,1°
	Осінь	330,06±5,96	311,7±15,7	397,1±2,3 ^{***ooo}
ВГЕ пг	Весна (контр)	34,1±6,1	30,1±3,01	31,6±2,6
	Літо	64,2±3,3 ^{oo}	38,03±2,06 ^{***}	57,5±7,8°
	Осінь	45,5±3,03	40,4±5,6	37,4±3,5
СОЕ фл	Весна (контр.)	114,7±14,3	99,8±10,1	170,1±13,6*
	Літо	146,3±18,8	100,3±4,7*	137,8±20,9
	Осінь	138,1±9,4	132,7±23,6	93,2±4,8 ^{**ooo}

Примітка. КП – кольоровий показник, СОЕ – середній об'єм еритроцитів, СКГЕ – середня концентрація гемоглобіну в еритроциті, ВГЕ – кількість гемоглобіну в одному еритроциті.

Стосовно породних особливостей гематологічного профілю у досліджуваних корокових риб необхідно зауважити, що кількість еритроцитів та середня концентрація гемоглобіну в еритроциті у крові сазана в осінній період дослідження були більшими ($p < 0,01$; $p < 0,001$), ніж у цей період у коропа лускатого.

При цьому встановлено тенденцію до зростання концентрації гемоглобіну та менший ($p < 0,01$) середній об'єм еритроцитів у крові сазана, порівняно з лускатим

коропом. У літній період досліджень середній об'єм еритроцитів і кількість гемоглобіну в одному еритроциті у крові рамчастого коропа були меншими ($p<0,05$; $p<0,001$), ніж у лускатого коропа.

Загалом отримані результати досліджень свідчать, що гематологічний профіль у досліджуваних коропових риб залежить від сезонних факторів, що прямо і опосередковано здатні впливати на склад червоної крові.

3.1.3. Вплив сезонних факторів на кількість та функціональну активність Т- і В-лімфоцитів крові коропових риб. Значне зацікавлення викликає вивчення породних особливостей імунобіологічної реактивності і, зокрема,

Таблиця 3.6

Відносна кількість Т-загальних лімфоцитів та їх окремих субпопуляцій у крові коропових риб ($M \pm m$, $n=5$)

Показники ТЕ-РУЛ	Група риб	Періоди досліджень		
		Весна (контр.)	Літо	Осінь
0	ЛК(контр.)	69,8±1,43	73,6±1,20	67,0±1,18
	РК	67,6±0,5	61,6±0,8*** ^{ooo}	56,4±0,81*** ^{ooo}
	С	76,0±1,30*	63,7±1,45*** ^{ooo}	50,6±1,4*** ^{ooo}
3-5	ЛК(контр.)	23,2±1,39	16,3±0,66 ^{oo}	26,2±1,31
	РК	21,4±0,44	27,6±0,66*** ^{ooo}	30,4±0,5* ^{ooo}
	С	21,0±0,89	27,0±1,15*** ^{oo}	34,4±0,67*** ^{ooo}
1	2	3	4	5
6-10	ЛК(контр.)	7,0±0,83	8,0±1,52	6,4±0,81
	РК	9,40±0,40*	8,66±0,88	12,4±1,1** ^o

	С	3,00±0,63**	8,0±0,57 ^{ooo}	14,0±1,51*** ^{ooo}
1	2	3	4	5
М	ЛК(контр.)	-	2,1±0,57	-
	РК	1,6±0,24	-	-
	С	-	-	-
%	ЛК(контр.)	30,2±1,40	26,4±1,20	33,0±1,18
	РК	32,0±0,50	38,3±0,8*** ^{ooo}	43,6±0,81*** ^{ooo}
	С	24,0±1,30*	36,3±1,45*** ^{ooo}	49,4±1,4*** ^{ooo}

клітинної ланки специфічної імунної відповіді у досліджуваних риб у зв'язку з сезонними факторами.

Проведені дослідження показали, що загальна кількість Т- і В лімфоцитів, а також регуляторних їх популяцій у крові коропа лускатого, коропа рамчастого і сазана вродовж річного циклу їх вирощування значною мірою залежать від сезонних факторів.

Як бачимо з даних, наведених у таблиці 3.6, загальна кількість Т-лімфоцитів у коропа рамчастого і сазана у літній і, особливо, осінній періоди вирощування більша ($p < 0,001$), ніж у весняний період. При цьому у крові коропа лускатого констатовано тенденцію до зменшення ТЕ-РУЛ у літній і збільшення в осінній період дослідження.

Збільшення загальної кількості Т-лімфоцитів у крові коропа рамчастого і сазана у літній і осінній періоди вирощування відбувалось за рахунок перерозподілу рецепторного апарату імунокомпетентних клітин.

Зокрема, кількість ТЕ-РУЛ з низькою і середньою щільністю рецепторів у крові коропа рамчастого і сазана у вказаний період досліджень була більша ($p < 0,05$ – $0,001$), а «нульових», недиференційованих у функціональному відношенні клітин – менша ($p < 0,001$), ніж у контролі. При цьому вказані зміни були виражені більшою

мірою у крові сазанів. Так, кількість ТЕ-РУЛ з середньою щільністю рецепторів у літній і осінній періоди зросла відповідно у 2,6 ($p<0,001$) і 4,6 разу ($p<0,001$), а «нульових» – зменшилась на 12,3 ($p<0,001$) і 25,4 % ($p<0,001$) порівняно до весняного періоду досліджень.

Таким чином результати проведених досліджень дають підставу стверджувати про значний імуностимулювальний вплив сезонних факторів у літній і осінній періоди на загальну кількість Т-лімфоцитів та їх функціональну активність у крові коропа рамчастого та сазана і меншою мірою у коропа лускатого.

Стосовно породних відмінностей Т-клітинного імунітету досліджуваних риб нами констатовано, що кількість ТЕ-РУЛ у крові коропа рамчастого і сазана у літній і осінній період була більша ($p<0,05$ – $0,001$), ніж у лускатого коропа. При цьому зафіксовано меншу ($p<0,05$) кількість ТЕ-РУЛ у крові сазанів порівняно до лускатих коропів у весняний період досліджень. Щодо ступеня їх диференціації, то зміни кількості ТЕ-РУЛ у крові коропа рамчастого і сазана у літній і осінній період відбувались за рахунок зменшення ($p<0,05$ – $0,001$) кількості неактивних у функціональному відношенні клітин і збільшення ($p<0,05$ – $0,001$) популяції із низькою і середньою щільністю рецепторів. Перерозподіл авідності ТЕ-РУЛ у крові сазанів у весняний період відбувався на тлі збільшення ($p<0,05$) кількості «нульових» і зменшення ($p<0,01$) середньоавідних Т-лімфоцитів крові.

Відомо, що популяція Т-лімфоцитів крові складається з декількох субпопуляцій, клітини яких відрізняються за функціональним станом. Тому використання у дослідженнях тесту “активного” розеткоутворення дозволяє визначити субпопуляцію Т-клітин, які мають високоафінні рецептори до індикаторних клітин (еритроцитів) і активно взаємодіють з ними без додаткової сенсibilізації.

З даних, наведених у таблиці 3.7 бачимо, що загальна кількість ТА-РУЛ у крові коропа лускатого в осінній період більша ($p<0,001$), а у літній – менша ($p<0,05$), ніж у весняний. При цьому в осінній період, порівняно до весняного, зафіксовано також більшу ($p<0,001$) кількість Т-активних лімфоцитів у крові сазанів.

Таблиця 3.7

**Відносна кількість Т-активних лімфоцитів та їх окремих субпопуляцій
у крові корошових риб ($M \pm m$, $n=5$)**

Показники ТА-РУЛ	Група Риб	Періоди досліджень		
		Весна	Літо	Осінь
0	ЛК	71,6 $\pm$ 1,43	79,3 $\pm$ 2,3°	62,2 $\pm$ 0,37 ^{ooo}
	РК	63,2 $\pm$ 1,52**	66,4 $\pm$ 1,76*	64,0 $\pm$ 1,48
	С	73,8 $\pm$ 0,96	73,6 $\pm$ 2,33	62,2 $\pm$ 2,15 ^{ooo}
3-5	ЛК	23,4 $\pm$ 0,97	17,3 $\pm$ 1,45 ^{oo}	30,4 $\pm$ 1,2 ^{oo}
	РК	31,8 $\pm$ 1,31***	27,3 $\pm$ 3,38	27,8 $\pm$ 0,86°
	С	18,4 $\pm$ 0,67**	21,0 $\pm$ 1,73	30,6 $\pm$ 2,06 ^{ooo}
6-10	ЛК	4,6 $\pm$ 0,87	3,0 $\pm$ 0,57	7,0 $\pm$ 1,14
	РК	5,0 $\pm$ 0,44	5,33 $\pm$ 1,45	7,8 $\pm$ 0,86°
	С	7,4 $\pm$ 0,50*	4,3 $\pm$ 0,3 ^{ooo}	6,8 $\pm$ 0,91
%	ЛК	28,4 $\pm$ 1,43	20,7 $\pm$ 2,33°	37,8 $\pm$ 0,37 ^{ooo}
	РК	36,8 $\pm$ 1,52**	33,6 $\pm$ 1,76*	36,0 $\pm$ 1,48
	С	26,2 $\pm$ 0,96	26,3 $\pm$ 2,3	37,8 $\pm$ 2,15 ^{ooo}

Зміни кількості ТА-РУЛ у крові коропа рамчастого впродовж експерименту були не вірогідні. Збільшення кількості ТА-РУЛ у крові коропа лускатого і сазана в осінній період відбувалось на тлі зростання кількості низькоавідних ($p < 0,01 - 0,001$) і зменшення ($p < 0,001$) числа недиференційованих у функціональному відношенні клітин

Разом з цим необхідно зауважити, що зменшення кількості Т-активних лімфоцитів у крові лускатих коропів у літній період відбувалось за рахунок зменшення ($p < 0,01$) ТА-РУЛ з низькою щільністю рецепторів і збільшення ($p < 0,05$) «нульових» клітин. Ці дані свідчать про вплив сезонних факторів на кількість і функціональну активність ТА-РУЛ у крові досліджуваних риб. Цей вплив був

виражений більшою мірою у крові лускатих коропів і сазанів і меншою – у рамчастих коропів.

При аналізі наведених у таблиці 3.7 даних звертає на себе увагу вірогідно більша кількість ТА-РУЛ у крові рамчастих коропів, порівняно до лускатих у весняний і літній періоди досліджень. При цьому у крові рамчастих коропів кількість ТА-РУЛ з низькою щільністю рецепторів у весняний період була більша ($p < 0,001$), а неактивних у функціональному відношенні клітин – менша ($p < 0,01$), ніж у лускатих коропів.

Відомо, що Т-лімфоцити поділяються на функціонально відмінні популяції, основними з яких є Т-хелпери (Th) і цитотоксичні (Tc або CTL) клітини. Ідентифікацію Т-клітин проводять шляхом визначення у них експресійних мембранних білків, які відрізняються у функціонально різних популяціях. Ці білки являються фенотипічними маркерами різноманітних популяцій лімфоцитів. Т-лімфоцити відіграють важливу роль у селективному розпізнаванні імуногенів і в активації антиген-специфічних В-лімфоцитів.

Як показали результати проведених досліджень (табл. 3.8) кількість ефektorних Т-лімфоцитів у крові досліджуваних риб також залежала від впливу сезонних чинників. Зокрема, зафіксовано вірогідно більшу кількість теофілін-резистентних Т-лімфоцитів у крові лускатих коропів і сазанів в осінній період та у сазанів у літній період досліджень. Щодо ступеня їх диференціації, то зміни кількості Th-лімфоцитів у крові лускатих коропів і сазанів у вказані періоди досліджень відбувались за рахунок збільшення ($p < 0,05–0,001$) популяції низькоавідних Th-клітин і зменшення ($p < 0,05–0,001$) – «нульових», недиференційованих у функціональному відношенні теофілін-резистентних Т-лімфоцитів.

З даних, наведених у таблиці 3.8 бачимо, що кількість Th-лімфоцитів у крові рамчастих коропів у всі досліджувані періоди більша ($p < 0,05–0,001$), ніж у лускатих. При цьому зафіксовано більшу кількість теофілін-резистентних Т-лімфоцитів у крові сазанів порівняно до лускатих коропів у осінній період досліджень.

Таблиця 3.8

**Відносна кількість Th-РУЛ та їх окремих субпопуляцій у крові
досліджуваних риб ($M \pm m$, $n=5$)**

Показники Th-РУЛ	Група Риб	Періоди досліджень		
		Весна	Літо	Осінь
0	ЛК	81,0±0,94	81,3±0,88	77,4±0,92°
	РК	75,4±0,81***	77,0±0,57*	74,0±0,70*
	С	82,2±0,58	78,7±0,88°	70,4±0,41*** ^{ooo}
3-5	ЛК	14,0±0,44	12,7±0,88	19,4±0,5 ^{ooo}
	РК	17,2±0,37***	17,6±0,32***	18,6±0,92
	С	12,4±0,50*	15,7±0,87°	21,2±0,58* ^{ooo}
6-10	ЛК	5,0±0,54	6,0±1,52	3,4±0,5
	РК	7,4±0,37**	5,3±0,88	7,4±0,67***
	С	5,20±0,48	5,6±0,80	7,6±0,74***°
М	ЛК	-	-	-
	РК	-	-	-
	С	-	-	-
%	ЛК	19,0±0,94	18,7±0,66	22,6±0,92°
	РК	24,6±0,81***	23,0±0,57*	26,0±0,70*
	С	17,8±0,58	21,3±0,80°	29,6±0,40*** ^{ooo}

Вказані зміни у кількості Th-лімфоцитів у крові рамчастих коропів і сазанів відбувались на тлі збільшення ($p < 0,05-0,001$) популяції клітин із низькою і середньою щільністю рецепторів і зменшення ($p < 0,05-0,001$) неактивних у функціональному відношенні клітин. Т-супресори крім виконання хелперних і цитотоксичних функцій, можуть також інгібувати імунну відповідь.

На сьогоднішній день існують різні погляди щодо природи і фізіологічної ролі клітин, які називаються Т-супресорами.

Як показали проведені дослідження (табл. 3.9), кількість теофілін-чутливих Т-лімфоцитів 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 коропів – у 2,0 ($p<0,001$) і 2,3 разу ($p<0,001$) порівняно до їх кількості у весняний період досліджень. При цьому у крові рамчастих коропів і сазанів у літній і осінній період кількість T_h була більша ($p<0,05$ – $0,001$), а у весняний період – менша ($p<0,05$), ніж у лускатих коропів.

Таблиця 3.9

Відносна кількість T_s -лімфоцитів у крові риб ($M\pm m$, $n=5$)

Показники T_s	Група риб	Періоди досліджень		
		Весна	Літо	Осінь
%	ЛК	$11,4\pm 1,31$	$7,7\pm 0,6^{\circ}$	$10,8\pm 1,7$
	РК	$7,8\pm 0,58^*$	$15,3\pm 0,6^{***ooo}$	$17,6\pm 1,4^{*ooo}$
	С	$6,2\pm 0,96^*$	$15,0\pm 1,5^{***oo}$	$19,8\pm 1,46^{*ooo}$

З наведених у таблиці 3.10 даних звертає на себе увагу зменшення більше, ніж у два рази ($p<0,01$ – $0,001$) величини імунорегуляторного індексу у крові рамчастих коропів і сазанів у літній і осінній періоди досліджень порівняно до весняного. Водночас у лускатих коропів сезонні зміни імунорегуляторного індексу були протилежні, ніж у рамчастих коропів і сазанів, проте різниці не вірогідні. Так, у лускатих коропів зафіксовано вищу лімфоцитарну активність у літній і осінній періоди порівняно до весняного

Таблиця 3.10

Імунорегуляторний індекс і функціональна активність T -лімфоцитів у реакції бластної трансформації лімфоцитів з ФГА у крові досліджуваних риб ($M\pm m$, $n=5$)

Показник	Група риб	Періоди досліджень		
		весна	літо	Осінь
1	2	3	4	5
ІРІ	ЛК	$1,78\pm 0,21$	$2,45\pm 0,21$	$2,43\pm 0,40$
	РК	$3,23\pm 0,37^{**}$	$1,50\pm 0,07^{*ooo}$	$1,52\pm 0,17^{oo}$

	С	3,06±0,35*	1,44±0,17*** ^{oo}	1,52±0,10 ^{oo}
РБТЛ з ФГА, %	ЛК	28,6±1,28	26,1±0,43°	35,0±0,54 ^{oo}
	2	3	4	5
	РК	33,2±0,58*	32,6±0,33***	33,6±0,74
	С	25,0±0,83*	27,3±1,20*	33,6±1,36 ^{oo}

Таким чином отримані результати досліджень свідчать з одного боку про значний вплив сезонних факторів на лімфоцитарну активність у крові корокових риб, а з іншого про породні особливості співвідношення імунорегуляторних клітин.

При дослідженні Т-системи імунітету поєднують як кількісну, так і функціональну характеристику окремих її компонентів. Одним із важливих параметрів функціональної активності лімфоцитів периферичної крові є показник бластної трансформації (РБТЛ). Трансформація лімфоцитів у бласти — це процес активації малих лімфоцитів, які являють собою в стані спокою відносно малоактивні або неактивні Т- і В-лімфоцити периферичної крові [1]. Як бачимо з отриманих даних (табл. 3.10), кількість бластних клітин у крові лускатих коропів і сазанів в осінній період більша ($p < 0,001$), ніж у весняний. При цьому у крові лускатих коропів у літній період за дії на Т-лімфоцити мітогену ФГА відбувається пригнічення реакції бластної трансформації Т-лімфоцитів, порівняно з весняним періодом досліджень ($p < 0,05$). Разом з цим у крові рамчастих коропів порівняно до лускатих у весняний і літній період досліджень зафіксовано посилення ($p < 0,05$; $p < 0,001$) імунної відповіді Т-лімфоцитів крові до бластної трансформації на фітогемаглютинін. Вірогідне збільшення кількості бластних клітин у крові рамчастих коропів вказує на те, що проходить активація процесів клітинної проліферації, посилення мітогенезу лімфоцитів і підвищення їх функціональної активності. Кількість бластних клітин у крові сазанів у весняний період була меншою ($p < 0,05$), а у літній — більшою ($p < 0,05$), ніж у вказані періоди у лускатих коропів.

При аналізі даних, наведених у таблиці 3.11, звертає на себе увагу вірогідно менша кількість В-лімфоцитів у крові рамчастих і лускатих коропів і сазанів у

осінній період, порівняно до весняного. При цьому у крові риб у цей період виявлено більшу ($p<0,01-0,001$) кількість «нульових» і низькоавідних ЕАС-РУЛ і меншу ($p<0,01-0,001$) – антигензв'язуючих В-лімфоцитів із середньою щільністю рецепторів. Разом з цим необхідно зауважити, що кількість ЕАС-РУЛ у крові рамчастих коропів у літній і сазанів у осінній періоди досліджень була відповідно більша ($p<0,01$; $p<0,05$), ніж у лускатих коропів. Ці зміни кількості ЕАС-РУЛ у крові рамчастих коропів і сазанів відбувалися на тлі зменшення ($p<0,01$) кількості «нульових» і збільшення ($p<0,05$) середньоавідних В-лімфоцитів.

Таблиця 3.11

Відносна кількість В-лімфоцитів (ЕАС-РУЛ) у коропових риб ($M\pm m$; $n=5$)

Показники ЕАС-РУЛ	Група риб	Періоди досліджень		
		весна	літо	Осінь
0	ЛК	71,8 $\pm$ 1,11	73,7 $\pm$ 1,20	77,2 $\pm$ 0,58 ^{oo}
	РК	69,6 $\pm$ 1,16	66,3 $\pm$ 1,45**	76,8 $\pm$ 0,37 ^{ooo}
	С	72,4 $\pm$ 0,24	69,7 $\pm$ 1,45	74,6 $\pm$ 0,5*** ^{oo}
3-5	ЛК	19,0 $\pm$ 0,44	18,3 $\pm$ 0,88	19,0 $\pm$ 0,44
	РК	22,4 $\pm$ 1,24*	22,0 $\pm$ 1,15*	28,2 $\pm$ 0,37*** ^{oo}
	С	16,2 $\pm$ 0,37***	20,33 $\pm$ 0,88 ^{oo}	20,8 $\pm$ 0,37* ^{ooo}
6-10	ЛК	9,20 $\pm$ 0,86	8,0 $\pm$ 0,57	3,8 $\pm$ 0,37 ^{ooo}
	РК	8,0 $\pm$ 0,70	9,1 $\pm$ 0,57	5,0 $\pm$ 0,31* ^{oo}
	С	9,8 $\pm$ 0,48	9,0 $\pm$ 0,57	4,6 $\pm$ 0,67 ^{ooo}
М	ЛК	-	-	-
	РК	-	2,6 $\pm$ 0,6	-
	С	1,6 $\pm$ 0,24	-	-
%	ЛК	28,2 $\pm$ 1,11	26,3 $\pm$ 1,20	22,8 $\pm$ 0,58 ^{oo}
	РК	30,4 $\pm$ 1,16	33,7 $\pm$ 1,45**	23,2 $\pm$ 0,37 ^{ooo}
	С	27,6 $\pm$ 0,24	30,3 $\pm$ 1,45	25,4 $\pm$ 0,55* ^{oo}

Таким чином результати проведених експериментальних досліджень свідчать, що кількість Т- і В-лімфоцитів у крові коропових риб та їх функціональна

активність значною мірою залежить від впливу сезонних і генетичних факторів. Про що вказує вірогідне збільшення кількості Т-лімфоцитів (загальних, активних, теофілін-чутливих і теофілін-резистентних) і зменшення В-лімфоцитів у крові досліджуваних риб у літній і, особливо осінній період досліджень. При цьому констатовано підвищення функціональної активності Т-лімфоцитів крові за рахунок перерозподілу рецепторного апарату імунокомпетентних клітин. Зокрема, зменшення у крові кількості неактивних у функціональному відношенні Т-лімфоцитів і збільшення клітин із низькою і середньою щільністю рецепторів. Стосовно ступеня диференціації В-лімфоцитів, то зменшення їх кількості у крові досліджуваних особин відбувались за рахунок збільшення «нульових» та низькоавідних ЕАС-РУЛ і зменшення субпопуляції із середньою щільністю рецепторів.

При аналізі породних особливостей досліджуваних риб, необхідно зауважити, що вищий потенціал клітинної ланки специфічної імунної відповіді зафіксовано у рамчастих коропів і сазанів. Про що свідчить більша, ніж у лускатих коропів кількість Т- і В-лімфоцитів у крові та вища їх функціональна активність.

3.1.4. Вплив сезонних факторів на активність клітинної і гуморальної ланок неспецифічної резистентності коропових риб. Проведені дослідження показали, що стан клітинної і гуморальної ланок природної резистентності організму досліджуваних коропових риб значною мірою залежав від впливу сезонних факторів і генетичних характеристик. З даних, наведених у таблиці 3.12 бачимо, що бактерицидна активність сироватки крові у лускатих коропів у літній і осінній періоди досліджень була відповідно на 7,4 ($p < 0,05$) і 11,6 % ($p < 0,001$) нижча, ніж у весняний.

При цьому у рамчастих коропів у вказані періоди досліджень спостерігали тенденцію до зниження БАСК, а у сазанів ці зміни були виражені більшою мірою. Так, в осінній період досліджень бактерицидна активність сироватки крові у сазанів була на 10,2 % ($p < 0,01$) нижчою, ніж у весняний. Подібні зміни, тільки виражені меншою мірою, спостерігали також при дослідженні лізоцимної активності

сироватки крові корокових риб. При цьому звертає на себе увагу зниження на 10,8 % ($p<0,01$) лізоцимної активності сироватки крові у сазанів у літній період, порівняно до весняного.

Таблиця 3.12

Динаміка гуморальних факторів неспецифічної резистентності корокових риб ($M\pm m$; $n=4-5$)

Показники	Періоди	Породи риб		
		Лускатий короп	Рамчастий короп	Сазан
БАСК, %	Весна (контр.)	44,9 $\pm$ 1,31	34,86 $\pm$ 2,55*	46,7 $\pm$ 1,55
	Літо	37,5 $\pm$ 0,51 ^o	29,9 $\pm$ 0,85***	42,9 $\pm$ 1,34**
	Осінь	33,3 $\pm$ 1,30 ^{ooo}	39,1 $\pm$ 1,58*	36,5 $\pm$ 2,39 ^{oo}
ЛАСК, %	Весна (контр.)	38,2 $\pm$ 1,35	35,4 $\pm$ 1,20	44,4 $\pm$ 1,50*
	Літо	33,6 $\pm$ 0,72	32,4 $\pm$ 0,97***	38,8 $\pm$ 0,50*** ^{ooo}
	Осінь	36,0 $\pm$ 0,70	42,8 $\pm$ 1,06	45,2 $\pm$ 1,06***
ЦК, ммоль/л	Весна (контр.)	40,8 $\pm$ 1,46	36,4 $\pm$ 1,74	42,0 $\pm$ 1,51
	Літо	35,2 $\pm$ 1,35 ^o	35,8 $\pm$ 0,86	41,2 $\pm$ 1,39*
	Осінь	42,2 $\pm$ 2,26	45,6 $\pm$ 1,92 ^{oo}	48,4 $\pm$ 2,65

Циркулюючі імунні комплекси характеризують ступінь синтезу антитіл в організмі і спрямовані на елімінацію патогенних антигенів. При дослідженні циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові досліджуваних риб констатовано зменшення ($p<0,05$) їх вмісту у лускатих коропів у літній період і збільшення ($p<0,01$) у рамчастих коропів в осінній період досліджень порівняно до весняного.

Стосовно породних особливостей показників гуморальної ланки природної резистентності у досліджуваних корошових риб необхідно зауважити, що бактерицидна і лізоцимна активність сироватки крові у рамчастих корошів у весняний і літній періоди були нижчими ($p < 0,05-0,001$), ніж у вказані періоди досліджень у лускатих корошів. Ці дані свідчать про нищу активність гуморальних механізмів захисту в організмі любінських рамчастих корошів порівняно до лускатих. Ці різниці можуть бути детерміновані генетично, про що свідчить більш стабільний генетичний апарат у любінських лускатих, ніж у любінських рамчастих корошів [16].

При аналізі наведених у таблиці даних звертає на себе увагу вища бактерицидна і лізоцимна активність сироватки крові та більший вміст циркулюючих імунних комплексів у крові сазанів у літній та осінній періоди досліджень, порівняно до любінських лускатих корошів ($p < 0,05-0,001$). Вказані різниці були виражені більшою мірою у літній період досліджень, ніж у осінній. При цьому необхідно зауважити вищу лізоцимну активність сироватки крові у сазанів порівняно до любінських лускатих корошів у весняний період досліджень ($p < 0,05$).

Таким чином, отримані результати досліджень свідчать про значно вищі показники гуморальної ланки неспецифічної резистентності у сазанів порівняно до любінських лускатих і рамчастих корошів.

Вплив сезонних факторів на клітинну ланку неспецифічної резистентності організму досліджуваних корошів виражений меншою мірою, ніж гуморальних (табл. 3.12). Про що свідчить відсутність вірогідних змін фагоцитарної активності гранулоцитів крові корошів у різні періоди досліджень. Водночас, виявлено тенденцію до зниження фагоцитарної активності гранулоцитів у крові лускатих і рамчастих корошів у літній і осінній період, порівняно до весняного, і підвищення її активності у вказані періоди досліджень у сазанів.

Згідно сучасних уявлень фагоцитоз є першою фазою специфічної імунної реакції в результаті якої антиген зазнає змін, що приводить до утворення великої кількості антигенних детермінант [257]. При дослідженні показників фагоцитозу

поряд з фагоцитарною активністю визначають фагоцитарний індекс і фагоцитарне число.

Як показали результати досліджень, у крові лускатих і рамчастих коропів у літній період, порівняно до весняного, зафіксовано зниження ($p < 0,05$; $p < 0,01$) фагоцитарного індексу, який характеризує кількість захоплених мікроорганізмів одним активним фагоцитом. Ці дані вказують на зниження перетравної здатності гранулоцитів крові у лускатих і рамчастих коропів у літній період досліджень. Результати досліджень показників фагоцитозу узгоджуються з даними вмісту циркулюючих імунних комплексів. Відомо, що ЦІК беруть участь у регуляції хемотаксичної здатності та метаболічної активації нейтрофілів крові.

Отже, отримані результати досліджень свідчать про нижчий рівень показників неспецифічної резистентності у любінських лускатих і рамчастих коропів та сазанів у літній та осінній періоди порівняно з весняним, що ймовірно зумовлено зміною температури води, кількістю спожитого корму і зростанням антигенного навантаження на організм коропів.

При дослідженні породних особливостей показників клітинної ланки природної резистентності організму корошових риб звертає на себе увагу значно нижча ($p < 0,05$ – $0,001$) фагоцитарна активність гранулоцитів крові у рамчастих коропів порівняно до лускатих у всі періоди досліджень, а у весняний період фагоцитарне число та індекс також були меншими ($p < 0,001$). Ці дані свідчать про нищий рівень клітинних факторів неспецифічної резистентності в організмі любінських рамчастих коропів порівняно до лускатих. Разом з цим необхідно зауважити, що в усі досліджувані періоди фагоцитарна активність гранулоцитів крові у сазанів була вища, ніж у лускатих коропів, а у літній період різниці були вірогідні ($p < 0,001$).

При цьому у літній період у крові сазанів, порівняно до лускатих коропів констатовано вірогідно більше фагоцитарне число. Загалом, отримані результати досліджень свідчать про значно вищі показники клітинної і гуморальної ланок неспецифічної резистентності у сазанів порівняно до любінських лускатих і рамчастих коропів.

Таблиця 3.12

**Динаміка показників фагоцитозу гранулоцитів крові корокових риб за дії
сезонних факторів ($M \pm m$; $n=5$)**

Показники	Періоди	Породи риб		
		Лускатий короп (контр.)	Рамчастий короп	Сазан
ФА, %	Весна (контр.)	41,4±0,87	37,0±1,18*	42,6±1,50
	Літо	40,0±0,70	35,2±0,58***	46,0±0,70***
	Осінь	39,8±1,46	35,2±0,66*	44,0±1,30
ФІ, од	Весна (контр.)	9,31±0,07	8,22±0,03***	8,9±0,24
	Літо	8,55±0,31°	8,94±0,20°	9,0±0,14
	Осінь	9,02±0,31	8,49±0,36	9,26±0,25
ФЧ, %	Весна (контр.)	3,86±0,10	3,06±0,10***	3,80±0,19
	Літо	3,5±0,12	3,25±0,12	4,08±0,13*
	Осінь	3,62±0,20	3,02±0,17	3,92±0,17

Вищий потенціал природних механізмів захисту у сазанів ймовірно сформувався впродовж тривалої еволюції у різних умовах існування та у різних кліматичних зонах.

ВИСНОВКИ

1. Констатовано, що вміст проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ у плазмі крові лускатих та рамчастих коропів і сазанів в осінній період значно більший ($p < 0,01-0,001$), а вміст гідроперекисів ліпідів у літній – менший ($p < 0,001$), ніж у

весняний період досліджень. При цьому у крові досліджуваних риб в осінній період досліджень, порівняно до весняного зафіксовано нижчу супероксиддисмутаазну і глутатіонпероксидаазну активності та вищу каталаазну активність ($p < 0,01-0,001$), що свідчить про залежність інтенсивності пероксидних процесів в організмі риб від температурних факторів і активності ензимів САЗ.

2. В усі періоди досліджень у крові сазанів і рамчастих коропів, порівняно до лускатих встановлено значно вищу глутатіонпероксидаазну і нижчу каталаазну активності ($p < 0,05-0,001$). Водночас зафіксовано вищу ($p < 0,05$) супероксиддисмутаазну активність у крові рамчастих коропів порівняно до лускатих у весняний період і нижчу ($p < 0,01$) у сазанів в осінній період досліджень.

3. Кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну, величина гематокриту та середня концентрація гемоглобіну в еритроциті у крові коропа лускатого, коропа рамчастого та сазана у літній період і, особливо, в осінній значно більша ($p < 0,05-0,001$), ніж у весняний період. При цьому істотних породних відмінностей гематологічного профілю у коропових риб в усі досліджувані періоди не зафіксовано.

4. У коропа рамчастого, коропа лускатого і сазана кількість лімфоцитів у крові в осінній період 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 досліджень. При цьому у крові рамчастих коропів у літній період кількість еозинофілів була більша ($p < 0,001$), ніж весною. Породні особливості лейкоцитарного профілю крові у вказаних особин були виражені меншою мірою.

5. Встановлено збільшення ($p < 0,05-0,001$) кількості Т-лімфоцитів (загальних, активних, теофілін-чутливих і теофілін-резистентних) і зменшення ($p < 0,05-0,001$) В-лімфоцитів у крові досліджуваних риб у літній і, особливо осінній період досліджень, порівняно до весняного. При цьому зафіксовано вірогідне підвищення функціональної активності Т-лімфоцитів крові за рахунок перерозподілу рецепторного апарату імунокомпетентних клітин (зменшення у крові кількості неактивних у функціональному відношенні Т-лімфоцитів і

збільшення клітин із низькою і середньою щільністю рецепторів). Зменшення кількості В-лімфоцитів у крові досліджуваних особин відбувалось за рахунок збільшення ($p < 0,01-0,001$) «нульових» та низькоавідних ЕАС-РУЛ і зменшення ($p < 0,01-0,001$) субпопуляції із середньою щільністю рецепторів.

6. У рамчастих коропів і сазанів зафіксовано вищий потенціал клітинної ланки специфічної імунної відповіді. Про що свідчать більша ($p < 0,05-0,001$), ніж у лускатих коропів кількість Т- і В-лімфоцитів у крові та вища їх функціональна активність.

7. Констатовано нижчий рівень показників неспецифічної резистентності у любінських лускатих коропів і сазанів у літній період дослідження, порівняно з весняним. В усі досліджувані періоди активність клітинних і гуморальних факторів природної резистентності в організмі сазанів була вищою, ніж у любінських лускатих і рамчастих коропів. При цьому, бактерицидна і лізоцимна активність сироватки крові, а також фагоцитарна активність нейтрофілів, фагоцитарне число та індекс у крові рамчастих коропів у весняний і літній періоди були меншими ($p < 0,05-0,001$), ніж у вказані періоди досліджень у лускатих коропів.

Основні результати досліджень, які описані у цьому підрозділі, опубліковані у наступних працях [86, 87, 88, 89, 92, 93, 99, 94].

3.2. Стан імунного та антиоксидантного захисту у коропових риб за дії вітамінів А, D₃, Е, Цинку, Селену і Йоду

На сьогоднішній день нормативні значення жиророзчинних вітамінів добре вивчені у сільськогосподарських тварин. Проте, кількісна потреба в жиророзчинних вітамінах, і, особливо, мікроелементів Цинку, Йоду та Селену, а також їх вплив на функцію імунної та антиоксидантної систем у риб вивчена лише у деяких видів [28]. З огляду на це актуальним є дослідження гематологічного профілю, інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів, активності системи

антиоксидантного захисту та імунного потенціалу у коропа рамчастого та сазана за дії вітамінів А, D₃, Е і мікроелементів Цинку, Йоду та Селену у складі вітамінно-мінеральної добавки.

3.2.1. Вміст Цинку та Селену, активність ензимів системи антиоксидантного захисту й інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у коропових риб за дії вітамінів А, D₃, Е, та мікроелементів Цинку, Селену і Йоду у складі вітамінно-мінеральної добавки. З наведених у таблиці 3.13 даних бачимо, що вміст Цинку та Селену у тканинах коропових риб нагромаджувався значно більшою мірою у печінці, ніж у м'язах. Застосування у складі вітамінно-мінеральної добавки до комбікорму вітамінів А, D₃, Е, Цинку, Селену і Йоду спричиняло зростання вмісту Цинку та Селену у тканинах коропових риб. Так, вміст Цинку у печінці і скелетних м'язах у коропа рамчастого та сазана був відповідно в 1,5 ($p<0,001$) і 1,18 разу ($p<0,01$) та 1,2 і 1,25 разу ($p<0,001$) більший, ніж його вміст у цих тканинах контрольної групи. Подібні зміни, тільки виражені меншою мірою, зафіксовано при дослідженні у тканинах вмісту Селену. Зокрема, у коропа рамчастого і сазана вміст Селену у гепатопанкреасі та м'язах — в 1,47 і 1,30 разу ($p<0,01$) та 1,48 і 1,22 разу ($p<0,01$) більший, ніж в особин контрольної групи, відповідно.

Отримані результати свідчать, що застосування у складі вітамінно-мінеральної добавки вітамінів А, D₃, Е, Цинку, Селену і Йоду призводить до зростання вмісту Цинку та Селену у печінці і скелетних м'язах у коропа рамчастого та сазана.

Таблиця 3.13

Вміст Цинку та Селену у гепатопанкреасі та скелетних м'язах коропа рамчастого і сазана, мг/кг сирової маси ($M\pm m$, $n=3$)

Породи риб	Контроль	Дослід
Вміст Цинку (Zn) в печінці		
Рамчастий короп	48,98±0,1	73,87±0,7***
1	2	3

Сазан	51,92±0,64	77,93±0,84***
1	2	3
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 печінці		
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 показників вірогідні порівняно до показників риб контрольної групи (— $p < 0,05$; **— $p < 0,01$; ***— $p < 0,001$)*

Разом з цим, необхідно зауважити, що як і у попередніх випадках ці зміни були виражені більшою мірою у сазанів, ніж у рамчастих коропів. Це може вказувати на вищий потенціал антиоксидантного захисту у сазанів.

Зростання вмісту Цинку та Селену в досліджуваних тканинах корошових риб викликало зміни активності основних антиоксидантних ензимів (табл. 3.14).

Таблиця 3.14

Активність антиоксидантних ензимів у печінці та крові корошових риб за дії вітамінно-мінеральної добавки ($M \pm m$, $n=4$)

Породи риб	Групи риб	Показники		
		СОД, у.о./г тк.	ГП, мкмоль GSH/г тк. хв	КАТ (кров), ммоль H_2O_2 /мг білка / хв. $\times 10^{-7}$
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**

Зокрема, констатовано підвищення в 1,3 разу супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази активності у печінці сазанів і більше, ніж у 1,2 разу глутатіонпероксидази активності у печінці рамчастих коропів ($p < 0,05$). При цьому зафіксовано значне (більше, ніж у двічі) підвищення каталази активності у крові як коропів, так і сазанів ($p < 0,001$; $p < 0,01$).

Про що також свідчать вища в 1,4 і 1,2 разу ($p < 0,05$) відповідно СОД і ГП активності у нирках сазанів і в 1,2 разу ($p < 0,05$) ГП активність у нирках рамчастих коропів (табл. 3.15).

Таблиця 3.15

**Активність антиоксидантних ензимів у нирках корокових риб за дії
вітамінно-мінеральної добавки ($M \pm m$, $n=4$)**

Породи риб	Групи риб	Показники	
		СОД, у.о./г тк.	ГП, мкмоль GSH/г тк. Хв
Рамчастий короп	К	32,06±3,77	12,62±0,37
	Д	34,17±1,16	15,43±0,53*
Сазан	К	35,3±3,54	12,56±0,36
	Д	48,24±0,97*	16,72±1,29*

Подібні зміни активності вказаних ензимів, тільки виражені меншою мірою, констатовано також у м'язах коропів (табл. 3.16).

Таблиця 3.16

**Активність антиоксидантних ензимів у скелетних м'язах корокових
риб за дії вітамінно-мінеральної добавки ($M \pm m$, $n=4$)**

Породи риб	Групи риб	Показники	
		СОД, у.о./г тк.	ГП, мкмоль GSH/г тк. Хв
Рамчастий короп	К	28,03±1,21	16,43±0,29
	Д	30,5±0,53	17,28±0,64
Сазан	К	28,45±0,71	17,25±0,22
	Д	31,64±1,79	17,28±0,64

Отже, результати цих досліджень свідчать про позитивний вплив згодовування вітамінно-мінеральної добавки, і особливо Селену та Цинку у її складі, на активність антиоксидантних ензимів в організмі коропових риб.

Відомо, що активність глутатіонпероксидази в клітині тісно пов'язана з регенерацією глутатіону. Відновлений глутатіон разом з глутатіонпероксидазою і глутатіонредуктазою утворюють глутатіонову систему, яка захищає клітини від пероксидного стресу [202, 207].

Проведені дослідження показали (табл. 3.17), що згодовування вітамінно-мінеральної добавки спричиняло збільшення вмісту відновленого глутатіону в печінці, нирках і скелетних м'язах коропових риб.

Проте цей вплив був виражений більшою мірою у рамчастих короїв, ніж у сазанів. Про що вказує більший у 1,3 і 1,4 разу вміст відновленого глутатіону відповідно у нирках і скелетних м'язах рамчастих короїв ($p < 0,05$). Відомо, що завдяки підвищенню вмісту GSH тканини риб отримують опосередкований захист.

Таблиця 3.17

Вміст відновленого глутатіону у печінці, нирках і скелетних м'язах коропових риб за дії вітамінно-мінеральної добавки, мкмоль/г ($M \pm m$, $n=4$)

Досліджувані органи і тканини	Групи риб	Рамчастий короп	Сазан
1	2	3	4
Печінка	К	7,88 $\pm$ 0,18	8,14 $\pm$ 0,40
	Д	8,29 $\pm$ 0,42	8,36 $\pm$ 0,30
Нирки	К	4,73 $\pm$ 0,33	5,30 $\pm$ 0,22
	Д	6,02 $\pm$ 0,27*	5,80 $\pm$ 0,25
Скелетні м'язи	К	6,09 $\pm$ 0,29	5,66 $\pm$ 0,32
	Д	8,56 $\pm$ 0,77*	6,40 $\pm$ 0,42

Підвищення активності антиоксидантних ензимів спричинило зміни вмісту проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ (табл. 3.18). Зокрема, вміст ТБК-активних продуктів у плазмі крові сазанів зменшився в 1,3 разу ($p < 0,01$), а вміст

гідроперекисів ліпідів у коропа і сазана зменшився відповідно на 7,8 ($p < 0,01$) і 6,7 % ($p < 0,001$).

Ці дані свідчать про інгібуючий вплив жиророзчинних вітамінів, які є природними антиоксидантами та мікроелементів, особливо Селену та Цинку, які входять до активних центрів антиоксидантних ензимів, на процеси ліпідної пероксидації в організмі риб [184]. Водночас таке зменшення концентрації продуктів пероксидного окиснення ліпідів можна також пояснити виявленим нами зростанням активності ключових ензимів антиоксидантного захисту.

Таблиця 3.18

Вміст продуктів ПОЛ у плазмі крові коропових риб за дії вітамінно-мінеральної добавки ($M \pm m$, $n=4$)

Показники	Групи риб	Рамчастий короп	Сазан
ТБК, 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***

Загалом, отримані результати дають підставу стверджувати, що зменшення інтенсивності процесів ПОЛ у досліджуваних органах і тканинах коропових риб пов'язане із впливом жиророзчинних вітамінів і мікроелементів на активність ензимів антиоксидантного захисту в їх організмі.

3.2.2. Гематологічний профіль коропових риб за дії вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Цинку, Селену і Йоду. Як показали результати проведених досліджень згодовування риbam у складі комбікорму вітамінно-мінеральної добавки спричинило зміни окремих досліджуваних гематологічних показників у коропа рамчастого і сазана (табл. 3.19). При цьому ці зміни були виражені більшою мірою у крові сазанів, ніж у рамчастих коропів. Так, концентрація гемоглобіну у

крові рамчастих коропів і сазанів була відповідно на 5,7 і 8,1 % ($p < 0,05$) більша, ніж у контролі. Разом з цим виявлено тенденцію до збільшення вмісту загального протеїну, кількості еритроцитів і гематокриту у крові коропів дослідних груп порівняно до контролю.

Таблиця 3.19

**Гематологічні показники та вміст загального білка у сироватці крові
коропових риб за дії вітамінно-мінеральної добавки ($M \pm m$; $n=4$)**

Показники	Групи риб	Породи риб	
		Рамчастий короп	Сазан
Білок, г/л	К	20,66 $\pm$ 0,82	22,13 $\pm$ 1,39
	Д	27,1 $\pm$ 2,26*	26,6 $\pm$ 2,68
Гемоглобін, г/л	К	61,68 $\pm$ 1,66	62,23 $\pm$ 1,53
	Д	65,17 $\pm$ 1,5	67,29 $\pm$ 2,02*
Гематокрит, %	К	28,25 $\pm$ 0,85	29,50 $\pm$ 0,65
	Д	29,0 $\pm$ 1,47	30,5 $\pm$ 1,04
Еритроцити, Т/л	К	1,97 $\pm$ 0,18	1,97 $\pm$ 0,20
	Д	2,17 $\pm$ 0,08	2,22 $\pm$ 0,22

Ці зміни можна пояснити підвищенням гемопоетичної функції кісткового мозку й інтенсивності окисно-відновних процесів у тканинах риб за дії вітамінів А, D₃, Е і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду у складі біологічно активної добавки. Зокрема, збільшення вмісту еритроцитів у крові коропів, імовірно, обумовлено наявністю у складі досліджуваної добавки вітаміну Е єдиного наявного в мембранах еритроцитів антиоксиданту, який їх захищає від ПОЛ.

Проведені дослідження показали, що застосування вітамінів А, D₃, Е і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду у складі біологічно активної добавки істотно не впливало на індекси крові коропових риб (табл.3.20). Різниці порівняно до контролю були не вірогідні.

Таблиця 3.20

**Індекси крові корокових риб за дії вітамінно-мінеральної добавки
($M \pm m$; $n=4$)**

Показники	Групи риб	Породи риб	
		Рамчастий короп	Сазан
КП	К	$0,71 \pm 0,06$	$0,72 \pm 0,08$
	Д	$0,67 \pm 0,03$	$0,69 \pm 0,08$
СКГЕ, ммоль/л	К	$219,2 \pm 11,37$	$211,0 \pm 2,96$
	Д	$225,9 \pm 8,1$	$221,0 \pm 7,05$
ВГЕ, пг	К	$32,0 \pm 2,96$	$32,6 \pm 3,61$
	Д	$30,1 \pm 1,45$	$31,2 \pm 3,48$
СОЕ, фл	К	$146,6 \pm 14,13$	$154,4 \pm 16,34$
	Д	$134,4 \pm 10,07$	$141,0 \pm 14,17$

Лейкоцити у риб представлені різновидними за структурною організацією клітинами: нейтрофілами, еозинофілами, базофілами, моноцитами, лімфоцитами (табл. 3.21). В основному, лейкоцити у риб представлені лімфоцитами, на долю яких припадає близько 90 % клітин від загальної кількості. За даними літератури [176], в 1 мл крові риб лейкоцитів міститься у 5–20 разів більше, ніж у ссавців, що залежить від індивідуальних, видових і вікових особливостей та сезону року. Згодовування риbam дослідних груп вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Селену, Цинку і Йоду у складі біологічно активної добавки викликало зменшення кількості лейкоцитів у крові, особливо у сазанів, де різниці порівняно до контролю були вірогідні.

Таблиця 3.21

**Кількість лейкоцитів і співвідношення їх окремих форм у крові
корокових риб ($M \pm m$; $n=4$)**

Показники	Групи риб	Рамчастий короп	Сазан
1	2	3	4

Лейкоцити, Г/л		К	25,6±2,09	29,2±0,41
		Д	23,4±0,61	27,7±0,60*
Базофіли		К	1,75±0,25	2,33±0,66
		Д	3,25±0,61	2,33±0,33
1		2	3	4
Еозинофіли		К	1,75±0,47	1,75±0,47
		Д	—	1,5±0,28
Нейтрофіли	Паличкоядерні	К	—	—
		Д	—	—
	Сегментоядерні	К	6,25±0,47	5,0±0,40
		Д	7,0±0,70	6,75±0,75
Лімфоцити		К	87,75±1,37	89,75±0,85
		Д	85,5±1,04	86,0±2,16
Моноцити		К	2,75±0,75	2,0±0,40
		Д	3,25±0,62	3,75±1,03

При дослідженні співвідношення окремих форм лейкоцитів у крові, виявлено тенденцію до зростання кількості моноцитів та сегментоядерних нейтрофілів у риб дослідних груп. При цьому кількість лімфоцитів зменшилася, що вказує на реактивність організму риб. Зростання кількості сегментоядерних нейтрофілів і моноцитів вказує на стимулювальний вплив досліджуваної добавки на моноцитарно-макрофагальну ланку імунної відповіді. Як відомо нейтрофіли і макрофаги володіють фагоцитарними властивостями, а зростання їх кількості свідчить про зміцнення клітинної ланки неспецифічної резистентності організму риб.

Загалом отримані результати досліджень свідчать про позитивний вплив вітамінно-мінеральної добавки на киснево-транспортну та імунну функцію у риб, і, особливо у сазанів. Ці зміни можна пояснити комплексною стимулювальною

дією жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку та Йоду у складі біологічно активної добавки на гемопоетичну функцію й інтенсивність окисно-відновних процесів в організмі риб.

3.2.3. Стан клітинних факторів імунітету коропа та сазана за дії вітамінно-мінеральної добавки. Резистентність ставових риб, зокрема коропів, значною мірою залежать від ступеня забезпечення їх потреби у жиророзчинних вітамінах і мікроелементах. Це зумовлено впливом цих чинників на низку фізіологічних функцій і різних ланок обміну речовин в їхньому організмі [2] З наведених у таблиці (3.22) даних бачимо, що згодовування коропам у складі комбікорму вітамінно-мінеральної добавки спричиняло зміни показників клітинної ланки неспецифічної резистентності організму. Зокрема, фагоцитарна активність гранулоцитів крові у коропа і сазана була відповідно на 4,3 і 3,3 % вища ($p < 0,05$), ніж в особин контрольної групи. При цьому у крові коропів обох дослідних груп, порівняно до контрольних, зафіксовано зростання ($p < 0,05$) фагоцитарного числа, що виражає кількість фагоцитованих мікробних клітин на 100 підрахованих лейкоцитів.

Ці дані свідчать про стимулювальний вплив жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку та Йоду у складі добавки на клітинну ланку неспецифічної резистентності організму і, зокрема показники фагоцитозу гранулоцитів крові.

Таблиця 3.22

Показники фагоцитозу гранулоцитів крові коропових риб за дії вітамінно-мінеральної добавки ($M \pm m$; $n=4$)

Показники	Групи риб	Породи риб	
		Рамчастий короп	Сазан
1	2	3	4

ФА, %	К	39,25±1,10	40,25±0,85
	Д	43, 5±0,62*	43,52±0,06*
1	2	3	4
ФІ, од	К	8,05±0,12	7,90±0,23
	Д	7,85±0,21	8,14±0,09
ФЧ, %	К	3,16±0,05	3,17±0,08
	Д	3,42±0,08*	3,52±0,08*

Відомо, що одним із методичних прийомів аналізу структурно-функціонального стану імунної системи є дослідження кількості і функціональної активності Т- і В-лімфоцитів крові та їх регуляторних субпопуляцій [стат 5, 6]. Популяція лімфоцитів у риб здійснює функцію адаптивного імунітету, як і лімфоцити ссавців. У ній розрізняють субпопуляції, подібні за поверхневими маркерами і функціями до Т - і В-лімфоцитів ссавців [стат7].

Результати досліджень кількості Т-лімфоцитів (Е-РУЛ) та їх імунорегуляторних популяцій і В-лімфоцитів (ЕАС-РУЛ) у периферичній крові досліджуваних корошових риб наведені у таблицях 3.23–3.27. З цих даних бачимо, що досліджувані жиророзчинні вітаміни і мікроелементи Селен, Цинк та Йод у складі добавки до раціону коропів впливали на кількість Т- і В-лімфоцитів у крові та їх функціональну активність. Зокрема, констатовано більшу ($p<0,05$) кількість ТЕ-РУЛ у крові рамчастих коропів дослідної групи порівняно до контрольної (табл.3.23). Ці зміни відбувалися на тлі зменшення ($p<0,05$) у крові кількості «нульових», недиференційованих у функціональному відношенні лімфоцитів та тенденції до збільшення кількості ТЕ-РУЛ з низькою і середньою щільністю рецепторів. Досліджувані чинники у складі вітамінно-мінеральної добавки істотно не впливали на кількість ТЕ-РУЛ у крові сазанів, різниці порівняно до контролю були не вірогідні.

Таблиця 3.23

Відносна кількість ТЕ-РУЛ у крові коропа та сазана за дії вітамінів А, D₃, Е і мікроелементів Селену, Цинку та Йоду ($M \pm m$; $n=4$)

Показники ТЕ-РУЛ	Групи	Породи риб	
		Рамчастий короп	Сазан
0	К	67,75±0,75	63,5±0,95
	Д	64,4±0,33*	64,75±2,05
3-5	К	25,5±0,64	28,0±1,08
	Д	27,6±1,20	27,0±2,12
6-10	К	6,25±1,10	7,75±0,47
	Д	7,3±0,88	8,0±0,57
М	К	0,5±0,28	0,75±0,25
	Д	0,7±0,33	0,25±0,25
%	К	32,25±0,75	36,5±0,95
	Д	35,60±0,33**	35,25±2,05

Подібні результати, тільки виражені меншою мірою, отримані нами при дослідженні кількості «активних» Т-лімфоцитів (ТА-РУЛ), які мають високоафінні рецептори до індикаторних клітин (еритроцитів) і активно взаємодіють з ними без додаткової сенсibiliзації (табл.3.24). Так, застосування ридам досліджуваних вітамінів і мікроелементів викликало тенденцію до збільшення ($27,0 \pm 1,15$ у досліді проти $23,75 \pm 1,03$ у контролі) загальної кількості ТА-РУЛ у крові рамчастих коропів. При цьому в особин цієї групи зафіксовано тенденцію до зменшення кількості «нульових» і збільшення кількості низькоавідних ТА-РУЛ. Ці дані свідчать, що досліджувані жиророзчинні вітаміни і мікроелементи Селен, Цинк та Йод у складі добавки до раціону коропів позитивно впливають на рецепторний апарат імунокомпетентних клітин, і зокрема підвищують функціональну активність ТА-РУЛ.

Відомо, що Т-лімфоцити поділяються на функціонально відмінні популяції,

основними з яких є Т-хелпери (Th) і цитотоксичні (Tc або CTL).

Таблиця 3.24

Відносна кількість ТА-РУЛ у крові коропа та сазана за дії вітамінів А, D₃, Е і мікроелементів Селену, Цинку та Йоду ($M \pm m$; $n=4$)

Показники ТА-РУЛ	Групи	Породи риб	
		Рамчастий короп	Сазан
0	К	76,25±1,03	73,75±0,85
	Д	73,0±1,15	74,75±0,75
3-5	К	17,25±0,85	20,25±0,62
	Д	21,0±1,52	20,5±0,64
6-10	К	6,25±0,47	5,5±0,28
	Д	5,33±0,88	4,25±0,47
М	К	0,25±0,25	0,5±0,28
	Д	0,67±0,33	0,5±0,28
%	К	23,75±1,03	26,25±0,85
	Д	27,0±1,15	25,25±0,75

Як показали результати проведених досліджень (табл. 3.25) кількість ефektorних Т-лімфоцитів у крові риб також залежала від впливу досліджуваних чинників. Проте цей вплив був виражений більшою мірою у крові сазанів, ніж у рамчастих коропів. Так, кількість теофілін-резистентних Т-лімфоцитів у крові сазанів була менша ($p < 0,05$), а недиференційованих – більша ($p < 0,05$), ніж в особин контрольної групи. При цьому у крові рамчастих коропів і сазанів зафіксовано тенденцію до збільшення кількості теофілін-чутливих Т-лімфоцитів крові.

Визначення імунорегуляторного індексу, як відношення між теофілін-резистентними і теофілін-чутливими лімфоцитами крові використовується для оцінки лімфоцитарної функції імунокомпетентних клітин у нормі та за патології. Збільшення кількості Th-РУЛ свідчить про підвищення реактивності лімфоцитів і

домінуванні Т-хелперів, збільшення кількості CD8 клітин свідчить про зниження лімфоцитарної активності [256].

Таблиця 3.25

Відносна кількість Th-РУЛ і Ts-РУЛ у крові коропа та сазана за дії вітамінів А, D₃, Е і мікроелементів Селену, Цинку та Йоду ($M \pm m$; n=4)

Показники Th-РУЛ	Групи	Породи риб	
		Рамчастий короп	Сазан
0	К	77,5±1,51	72,50±1,19
	Д	77,4±1,85	76,25±0,47*
3-5	К	17,25±1,10	21,75±0,62
	Д	16,60±1,85	16,51±0,64***
6-10	К	5,01±1,08	5,25±0,85
	Д	5,33±0,33	6,01±0,57
М	К	0,25±0,25	0,50±0,28
	Д	0,77±0,33	1,25±0,47
%	К	22,51±1,52	27,50±1,19
	Д	22,61±1,85	23,75±0,47*
Ts-теофілінчутливі	К	9,75±1,25	9,01±1,22
	Д	13,02±1,52	11,50±1,84

Результати наших досліджень показали (табл. 3.26), що згодовування короповим риbam упродовж місяця жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку та Йоду у складі добавки до раціону викликає тенденцію до зниження лімфоцитарної активності та відповідно імунорегуляторного індексу у сазанів і рамчастих коропів.

При дослідженні функціональної активності Т-лімфоцитів у реакції бластної трансформації лімфоцитів необхідно зауважити, що кількість бластних клітин у

крові рамчастих коропів була на рівні особин контрольної групи. Водночас у крові сазанів за дії на Т-лімфоцити мітогену ФГА відбувається активація реакції бластної трансформації Т-лімфоцитів, проте різниці порівняно до контролю були не вірогідні.

Таблиця 3.26

Показники функціональної активності Т-лімфоцитів у крові коропа та сазана за дії вітамінів А, D₃, Е і мікроелементів Селену, Цинку та Йоду (M±m; n=5)

Показники	Групи	Породи риб	
		Рамчастий короп	Сазан
ІРІ	К	2,45±0,41	3,26±0,61
	Д	1,18±0,32	2,24±0,38
РБТЛ з ФГА, %	К	24,0±1,08	23,0±1,35
	Д	24,75±1,10	26,0±1,35

Застосовування вітамінів А, D₃, Е і мікроелементів Селену, Цинку та Йоду у складі добавки до раціону коропів суттєво не впливало на кількість і функціональну активність антиген-незалежних В-лімфоцитів крові (табл. 3.27). Водночас у сазанів констатовано тенденцію до зменшення загальної кількості В-лімфоцитів за рахунок збільшення «нульових» і зниження низькоавідних ЕАС-РУЛ.

Таким чином результати проведених досліджень показали, що згодовування коропам упродовж місяця жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку та Йоду у складі добавки до комбікорму спричиняло стимулювальний вплив на кількість і функціональну активність Т-лімфоцитів крові, особливо у рамчастих коропів. При цьому зафіксовано вірогідно меншу кількість теофілін-резистентних Т-лімфоцитів у крові сазанів. Підвищення функціональної активності Т-лімфоцитів у крові рамчастих коропів відбувалося за рахунок перерозподілу рецепторного апарату імунокомпетентних клітин.

Таблиця 3.27

Відносна кількість ЕАС-РУЛ у коропа та сазана за дії вітамінів А, D₃, Е і мікроелементів Селену, Цинку та Йоду ($M \pm m$; $n=5$)

Показники ЕАС-РУЛ	Групи	Породи риб	
		Рамчастий коропа	Сазан
0	К	76,0±0,57	72,25±1,43
	Д	77,4±1,20	77,5±2,10
3-5	К	17,5±0,64	20,25±1,70
	Д	16,0±0,57	16,5±2,53
6-10	К	6,0±0,40	6,75±0,85
	Д	6,6±1,42	5,25±0,62
М	К	0,5±0,28	0,75±0,47
	Д	-	0,75±0,25
%	К	24,0±0,57	27,75±1,43
	Д	22,6±1,20	22,5±2,10

Зокрема, зменшення у крові кількості неактивних у функціональному відношенні Т-лімфоцитів і збільшення клітин із низькою щільністю рецепторів. Це можна пояснити комплексною адитивною дією вказаних чинників у складі вітамінно-мінеральної добавки на специфічні механізми захисту організму. Зокрема, вітамін А, оптимізує структурну організацію клітинних мембран, що позитивно впливає на рецепторний апарат імунокомпетентних клітин [210]. При цьому важливо відзначити, що відомі на сьогодні механізми участі досліджуваних жиророзчинних вітамінів і мікроелементів забезпечують широкий спектр метаболічних процесів, які визначають, перш за все, рівень клітинних і гуморальних імунних реакцій, підтримання генетичного гомеостазу організму риб.

3.2.4. Стан гуморальної ланки імунної відповіді організму коропових риб за дії вітамінно-мінеральної добавки. При дослідженні показників, що

характеризують гуморальну ланку неспецифічної резистентності організму корокових риб за дії досліджуваних вітамінів і мікроелементів, звертає на себе увагу вища на 4,2 ($p<0,01$) і 7,5 % ($p<0,05$) бактерицидна активність сироватки крові відповідно у коропа і сазана, порівняно до контролю. Відомо, що бактерицидна активність сироватки крові є інтегральним фактором природної резистентності гуморального типу. До групи неспецифічних факторів гуморального захисту організму риб належить також лізоцим. Вважають, що він, крім прямої антимікробної активності, впливає на клітини лімфоїдної тканини та стимулює процеси фагоцитозу [10].

Таблиця 3.28

Гуморальні фактори захисту у корокових риб за дії вітамінно-мінеральної добавки ($M\pm m$; $n=4$)

Показники	Групи риб	Породи риб	
		Рамчастий короп	Сазан
БАСК, %	К	31,72 $\pm$ 0,72	34,5 $\pm$ 1,71
	Д	35,92 $\pm$ 0,62**	42,0 $\pm$ 1,17*
ЛАСК, %	К	33,0 $\pm$ 1,08	31,25 $\pm$ 1,10
	Д	34,5 $\pm$ 1,19	34,25 $\pm$ 0,4*
ЦІК, ммоль/л	К	49,8 $\pm$ 1,41	50,0 $\pm$ 1,0
	Д	47,6 $\pm$ 0,82	48,8 $\pm$ 1,06

Виявлено, що лізоцимна активність сироватки крові у сазанів була вищою ($p<0,05$), ніж в особин контрольної групи. При цьому згодовування рибам дослідних груп мінерально-вітамінної добавки істотно не впливало на вміст циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові. Ці дані вказують на відсутність антигенного навантаження на організм риб за дії досліджуваної добавки.

Отже, проведені дослідження показали, що згодовування коропам жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду у складі добавки

до комбікорму стимулює активність гуморальної ланки природної резистентності організму.

3.2.5. Вплив жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду на ріст коропових риб. Результати наших досліджень показали, що ріст коропів суттєво залежить від складу раціону та вмісту в ньому вітамінів та мікроелементів. Так, абсолютний приріст і довжина тіла коропа рамчастого та сазана дослідних груп, які споживали гранульований комбікорм з вітамінно-мінеральною добавкою, були більші, ніж у риб, що утримувалися лише на гранульованому комбікормі (табл. 3.29). Зокрема, маса рамчастих коропів і сазанів була більша відповідно на 13,2 і 6,4 %, а довжина тіла на 10,0 і 6,9 %, ніж у контролі.

Таблиця 3.29

Ріст коропів за дії вітамінно-мінеральної добавки ($M \pm m$, $n=10$)

Показники	Контроль	Дослід
Короп рамчастий		
Абсолютний приріст, г	$35,0 \pm 6,12$	$39,65 \pm 5,15$
Довжина тіла, см	$2,37 \pm 0,5$	$2,60 \pm 0,23$
Сазан		
Абсолютний приріст, г	$42,5 \pm 5,20$	$45,2 \pm 3,2$
Довжина тіла, см	$1,87 \pm 0,31$	$2,0 \pm 0,40$

Таким чином, результати досліджень свідчать про те, що короп рамчастий та сазан, яким згодовували, гранульований комбікорм з вітамінно-мінеральною добавкою, росли значно інтенсивніше, ніж риби, які споживали лише сам гранульований комбікорм.

В цілому результати проведених досліджень показали, що застосування коропам жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду у складі добавки до комбікорму позитивно впливає на гематологічний профіль крові, знижує інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів, підвищує активність

системи антиоксидантного захисту та імунного потенціалу у коропа рамчастого та сазана.

ВИСНОВКИ

1. Згодовування риbam дослідних груп упродовж тридцяти днів жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду у складі добавки до комбікорму спричинило зростання ($p < 0,01-0,001$) вмісту Цинку та Селену у тканинах коропових риб і зниження ($p < 0,01-0,001$) у плазмі крові вмісту проміжних і кінцевих продуктів пероксидного окиснення ліпідів. Водночас, зафіксовано підвищення в 1,3 разу супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази активності у печінці сазанів і в 1,2 разу глутатіонпероксидази активності у печінці рамчастих коропів ($p < 0,05$). При цьому констатовано підвищення вдвічі каталази активності у крові як коропів, так і сазанів ($p < 0,001$; $p < 0,01$) та збільшення в 1,3 і 1,4 разу вмісту відновленого глутатіону відповідно у нирках і скелетних м'язах рамчастих коропів ($p < 0,05$).

2. За дії вітамінів А, D₃, Е, Йоду, Цинку та Селену у крові рамчастих коропів і сазанів зростала концентрація гемоглобіну ($p < 0,05$). Разом з цим у коропів дослідних груп порівняно до контролю, виявлено тенденцію до збільшення вмісту загального протеїну, кількості еритроцитів і гематокриту та зменшення кількості лейкоцитів і лімфоцитів у крові, що позитивно впливало на киснево-транспортну та імунну функції, особливо у сазанів.

3. Констатовано стимулювальний вплив жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду у складі добавки до комбікорму на активність клітинної та гуморальної ланок природної резистентності організму рамчастого коропа і сазана. Про що свідчить вища ($p < 0,05-0,01$) фагоцитарна, лізоцимна і бактерицидна активність крові у риб дослідних груп порівняно до контролю. Цей вплив був виражений більшою мірою в організмі сазанів, ніж у рамчастих коропів.

4. Застосування жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку та Йоду у складі добавки до комбікорму викликало збільшення кількості Т-лімфоцитів крові (загальних і активних) і підвищення їх функціональної активності, особливо у рамчастих коропів. При цьому зафіксовано вірогідно меншу

кількість теофілін-резистентних Т-лімфоцитів у крові сазанів. Підвищення функціональної активності Т-лімфоцитів у крові рамчастих коропів відбувалося за рахунок перерозподілу рецепторного апарату імунокомпетентних клітин, зокрема, зменшення у крові кількості функціонально-неактивних у функціональному відношенні Т-лімфоцитів і збільшення клітин із низькою і середньою щільністю рецепторів.

Основні результати досліджень, які описані у цьому підрозділі, опубліковані у наступних працях [90, 91, 95, 96, 97, 98].

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Ставе рибицтво традиційно відіграє важливу роль у забезпеченні потреби населення України у цінних продуктах харчування [107]. Цим зумовлена актуальність поглиблення досліджень, скерованих на постійне підвищення продуктивних якостей ставових риб, їх стійкості до захворювань і стресів різної природи, більш ефективної трансформації поживних речовин корму у рибну продукцію [34]. Вагому частку у ставовому рибицтві становить вирощування коропів. Найбільш розповсюдженими породами ставових риб в Україні є короп і сазан. Короп був отриманий шляхом селекції дикого виду сазана. Сазан є одним з найбільш комерційно важливих і широко культивованих прісноводних риб у світі [43, 44], його виробництво становить 11 % від загальної світової прісноводної аквакультури [25]

Відомо, що фізіологічний стан риб, які належать до пойкилотермних організмів, значною мірою залежить від чинників зовнішнього середовища. Впродовж вегетаційного періоду риби здатні витримувати сезонні зміни температури та вмісту розчиненого у ній кисню, що суттєво впливає на стан антиоксидантної та імунної систем в їхньому організмі [21, 29, 104, 188, 276, 201, 62]. Значних змін упродовж року зазнає також рівень метаболізму у риб, які суттєво різняться за типом живлення і чутливістю до стресу, насамперед температури води, вмісту кисню, а також зміни хімічного складу води та вмісту природних кормів у водоймах [67].

Інтенсивність вільнорадикальних процесів в організмі риб є фізіологічно-адаптаційним механізмом до сезонних змін, що забезпечує живлення тканини риб, в умовах зимової гіпоксії [176, 251].

Біологічні ритми всіх риб показують загальні екофізіологічні явища, які суттєво впливають на гематологічний статус. А саме, чітко виражені добові і сезонні коливання всіх показників крові [6]. Морфологічна і біохімічна характеристика крові має певні відмінності в різних видів риби у зв'язку із

систематичним положенням, особливостями середовища існування і способу життя. Ці показники коливаються залежно від сезонності, умов утримання, віку, статі, стану особини [21, 122, 133].

Риби володіють всіма необхідними для імунної відповіді елементами, що і вищі тварини, проте водне середовище, в якому вони перебувають, зумовлюють особливості їх імунітету [222, 287]. Протягом багатьох років вважалося, що ступінь вродженої імунної відповіді залишається постійним упродовж всього року без сезонних коливань, таким чином, що імунна система забезпечує постійний захист від вторгнення патогенів [276]. Тим не менше, окремі дослідження показали, що сезонні коливання впливають на деякі імунні параметри за різних умов навколишнього середовища [117].

Проте наявні в літературі дані такого плану фрагментарні, а повідомлень щодо сезонних особливостей пероксидних процесів, стану імунної й антиоксидантної систем захисту в різних порід корокових риб практично немає. Тому наші дослідження були скеровані на комплексне вивчення процесів ПОЛ, стану імунної й антиоксидантної систем в організмі коропа лускатого, коропа рамчастого і сазана залежно від сезону та впливу на ці системи жиророзчинних вітамінів А, D₃, Е і мікроелементів Zn, Se, І.

З огляду на це мета першого етапу дисертаційної роботи полягала у з'ясуванні сезонних особливостей антиоксидантного захисту та імунного потенціалу у коропа лускатого, коропа рамчастого та сазана.

Проведені дослідження показали, що процеси пероксидного окиснення ліпідів і стан антиоксидантної системи в організмі досліджуваних корокових риб у різні пори року значною мірою залежать від сезонних чинників. Так, вміст проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ у плазмі крові лускатих та рамчастих коропів і сазана в осінній період значно більший, а вміст гідроперекисів ліпідів у літній — менший, ніж у весняний період досліджень. Отримані дані свідчать про значне посилення пероксидних процесів у організмі риб у осінній період, що ймовірно зумовлено температурними факторами [283, 275] та виявленим значним зниженням глутатіонпероксидазної і супероксиддисмутазної активності у крові

досліджуваних риб. Високий вміст ГПЛ і ТБК-активних продуктів у плазмі крові риб в осінній період також можна пояснити збільшенням кількості поліненасичених жирних кислот, які ініціюють пероксидне окиснення ліпідів у ліпідах клітинних мембран за умов зниження температури навколишнього середовища [70].

Дослідження породних особливостей ПОЛ у риб показали, що вміст ТБК-активних продуктів у плазмі крові рамчастих коропів у весняний і осінній періоди та ГПЛ у осінній період менший ($p < 0,01-0,001$), ніж у лускатих коропів. Водночас у плазмі крові сазанів, порівняно до лускатих коропів виявлено вірогідно більший вміст ТБК-активних продуктів у весняний і гідропероксидів ліпідів у літній періоди досліджень. Різниця у вмісті продуктів ПОЛ у досліджуваних порід коропових риб можуть бути зумовлені вмістом ПНЖК у ліпідах тіла прісноводних риб і у ліпідах кормів, що вони споживають. Є також повідомлення про те, що інтенсивність пероксидних процесів в організмі риб значно змінювалися залежно від їх видових біологічних особливостей, які були зумовлені, в основному, умовами їх існування [43, 174, 202]. Найбільш інтенсивно перебіг пероксидних процесів відбувається у зябрах риб за умов зміни температури, аерації, соленості води, у селезінці – при інфікуванні та імунних реакціях, у печінці – при інтоксикації [43]. Дані інших авторів свідчать про те, що на інтенсивність реакцій ПОЛ у риб значно впливала видова специфіка. Так у рослиноїдних риб ліпідний склад тканин містить велику кількість лінолевої і ліноленової кислот, котрі ініціюють процеси ПОЛ. Видова специфіка впливає на функціональний стан системи антиоксидантного захисту коропових риб. Ці дані узгоджуються з даними Крася С. І. що досліджував функціональний стан системи антиоксидантного захисту амурського сазана в Україні [37].

Активність ензимів антиоксидантної системи у крові досліджуваних нами коропових риб також значно змінювалася впродовж річного циклу вирощування, що зумовлено дією сезонних чинників. Це свідчать про обернену залежність між змінами вмісту продуктів ПОЛ і супероксиддисмутазою та глутатіонпероксидазою активністю, ключових ензимів антиоксидантної системи,

у крові коропа лускатого та рамчастого і сазана впродовж річного циклу вирощування. Вищу супероксиддисмутазну та глутатіонпероксидазну активність у крові коропа і сазана у весняний період досліджень можна пояснити тим, що після зимової перетримки у риб настає період відносної гіпероксигенації, що приводить до адаптивного збільшення активності супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази у крові [23]. Отримані нами результати узгоджуються з даними інших авторів, які вказують, що за умов гіпоксії активність СОД у тканинах риб знижується, а при гіпероксії – зростає [174].

Таким чином можна констатувати, що виявлене нами збільшення вмісту продуктів ПОЛ у крові досліджуваних коропових риб в осінній період зумовлено зниженням активності ключових ензимів антиоксидантної системи – СОД і ГПО. Причиною цього може бути зменшення субстратного забезпечення синтезу білків у печінці риб зі зниженням температури у цей період [71] і зменшення у гіпофізі продукції мелатоніну, який спричиняє модулюючий вплив на синтез ензимів антиоксидантної системи у різних тварин [254].

На відміну від СОД і ГП, каталазна активність у плазмі крові досліджуваних ставових риб у літній і, особливо, осінній період значно вища, ніж у весняний. При цьому також у плазмі крові досліджуваних особин у літній та осінній періоди порівняно до весняного зафіксовано у 3-5 разів більший ($p < 0,001$) вміст відновленого глутатіону. Результати цих досліджень свідчать про протилежні за напрямом зміни каталазної активності у літній і осінній період, порівняно з весняним періодом. Ці зміни можна пояснити тим, що за дії стресових факторів у ранній весняний період в організмі риб активуються вільнорадикальні процеси, що призводять до генерації ендogenousного кисню, утворення якого каталізується каталазою і компенсує нестачу кисню в організмі риб за умов гіпоксії [50, 61]. Результати наших досліджень узгоджуються з даними інших авторів [70].

Отже, отримані результати дають підставу вважати, що процеси пероксидного окиснення ліпідів і стан ензимної ланки антиоксидантної системи в організмі досліджуваних ставових риб значною мірою обумовлені породними характеристиками та залежать від впливу сезонних чинників.

Імунологічні показники риб є чутливими біомаркерами, серед яких стан лейкоцитів периферичної крові посідає одне з чільних місць. Вивчення лейкоцитарної системи характеризує загальний фізіологічний стан організму, його стійкість та здатність адаптуватись до умов середовища [129]. Дані літератури вказують на суттєві сезонні, вікові та навіть статеві особливості складу крові риб [161]. Склад периферичної крові риб значно коливається в межах виду, на що вказують більшість авторів [251].

Результати проведених нами досліджень свідчать про значний вплив сезонних факторів на кількість лейкоцитів та співвідношення їх окремих форм у крові коропа рамчастого, коропа лускатого і сазана. Зокрема констатовано, що кількість лейкоцитів і лімфоцитів у крові риб у літній і осінній періоди була більша, а кількість моноцитів і сегментоядерних нейтрофілів — менша, ніж на початку весняного періоду досліджень. Ці зміни у лейкограмі крові риб у вказані періоди досліджень можна пояснити підвищенням температури навколишнього середовища, що призводить до збільшення споживання рибами Оксигену, підвищення рівня метаболізму в їх тканинах та посилення антигенного навантаження на організм [28], що суттєво впливає на імунну функцію у риб. Як правило, кількість лейкоцитів зростає в теплий період року і знижується взимку, але в деяких риб (окунь, йорж, миньок) кількість лейкоцитів у цей період збільшується. Зростання кількості лейкоцитів і лімфоцитів у крові риб у літній і осінній періоди ймовірно обумовлено необхідністю підвищити захисні функції крові, тому що навколишнє середовище багате хвороботворними організмами. Адже лімфоцити є зрілими високодиференційованими клітинами крові, основна функція яких полягає у підтриманні імунологічного гомеостазу організму. Водночас отримані дані свідчать про імуносупресивний вплив сезонних чинників у літній та осінній період на клітинну ланку неспецифічної резистентності організму риб. Про що вказує менша кількість моноцитів і сегментоядерних нейтрофілів у крові досліджуваних риб.

Таким чином можна констатувати про значний вплив сезонних факторів на кількість лейкоцитів та співвідношення їх окремих форм у крові коропа лускатого,

коропа рамчастого і сазана. При цьому необхідно зауважити, що породні особливості лейкограми крові у вказаних особин були виражені меншою мірою.

Відомо, що однією з основних метаболічних систем, що визначає фізіолого-біохімічний гомеостаз організму є білковий обмін. Синтез білків відіграє важливу роль у процесах росту та розвитку коропа [34, 245, 277]. Результати наших досліджень показали, що вміст загального протеїну в сироватці крові коропа лускатого, коропа рамчастого і сазана у літній період більший, ніж у весняний і осінній періоди. При цьому істотних породних особливостей за вмістом загального протеїну в сироватці крові у досліджуваних коропових риб нами не зафіксовано.

Гематологічні дослідження — це показник фізіологічного стану, здоров'я риби та умов навколишнього середовища [32, 205,]. Збільшення або зменшення температури навколишнього середовища впливає на багато параметрів крові [116, 245].

Кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну, гематокритна величина у крові коропа лускатого і рамчастого та сазана у літній період і, особливо, в осінній була значно більша, ніж на початку весняного періоду. Отримані результати досліджень свідчать про значне зниження киснево-транспортної функції крові у риб у зимовий і на початку весняного періодів, порівняно з літнім і осіннім періодами. Ці зміни можна пояснити тим, що підвищення температури навколишнього середовища призводить до збільшення споживання рибами Оксигену та підвищення рівня метаболізму в їх тканинах [21, 36], що суттєво впливає на гематологічні показники риб у різні пори року.

Кількість еритроцитів у крові риб менша, ніж у вищих хребетних і коливається в широких межах, насамперед у залежності від рухливості риб, а лейкоцитів, як правило, більша. Це зв'язано, з одного боку, зі зниженим обміном речовин у риб, а з іншого — з необхідністю підсилити захисні функції крові, тому що навколишнє середовище багате хвороботворними організмами.

На підвищення киснево-транспортної функції крові у риб вказували вищі індекси крові (колірний показник, середня концентрація гемоглобіну в еритроциті та кількість гемоглобіну в одному еритроциті) у досліджуваних порід риб у літній

період порівняно з весняним. Як відомо чутливість риб до змін температури води також пов'язана з властивостями гемоглобіну: при підвищенні температури води потреба організму в кисні збільшується, але здатність гемоглобіну зв'язувати його знижується.

Стосовно породних особливостей гематологічних показників у досліджуваних корокових риб упродовж річного циклу вирощування необхідно зазначити, що істотних різниць не виявили. Таким чином, отримані результати досліджень свідчать, що гематологічний профіль у досліджуваних корокових риб упродовж річного циклу вирощування більшою мірою залежать від сезонних чинників, ніж генетичних характеристик.

Проведені нами дослідження показали, що загальна кількість Т- і В лімфоцитів, а також регуляторних їх популяцій у крові коропа лускатого, коропа рамчастого і сазана впродовж річного циклу їх вирощування також значною мірою залежать від сезонних факторів. Констатовано збільшення загальної кількості Т-лімфоцитів у крові корокових риб у літній і осінній періоди вирощування. Ці зміни у крові відбувались за рахунок перерозподілу рецепторного апарату імунокомпетентних клітин. Зокрема, кількість ТЕ-РУЛ з низькою і середньою щільністю рецепторів у крові коропа рамчастого і сазана у вказаний період досліджень була більша, а «нульових», недиференційованих у функціональному відношенні клітин – менша, ніж у контролі. Ці дані дають підставу стверджувати про значний імуностимулювальний вплив сезонних чинників у літній і осінній періоди на загальну кількість Т-лімфоцитів та їх функціональну активність у крові коропа рамчастого та сазана і меншою мірою у коропа лускатого. Стосовно породних відмінностей Т-клітинного імунітету досліджуваних риб нами констатовано, що кількість ТЕ-РУЛ у крові коропа рамчастого і сазана у літній і осінній період була більша, ніж у лускатого коропа.

Загальна кількість ТА-РУЛ у крові коропа лускатого в осінній період більша, а у літній – менша, ніж у весняний. При цьому в осінній період, порівняно до весняного, зафіксовано також більшу кількість Т-активних лімфоцитів у крові сазанів. Збільшення кількості ТА-РУЛ у крові коропа лускатого і сазана в осінній

період відбувалось на тлі зростання кількості низькоавідних і зменшення числа недиференційованих у функціональному відношенні клітин. Ці дані свідчать про вплив сезонних факторів на кількість і функціональну активність ТА-РУЛ у крові досліджуваних риб. Цей вплив був виражений більшою мірою у крові лускатих коропів і сазанів і меншою – у рамчастих коропів.

Як показали результати проведених досліджень кількість ефекторних Т-лімфоцитів у крові досліджуваних риб також залежала від впливу сезонних чинників. Зокрема, зафіксовано вірогідно більшу кількість теофілін-резистентних Т-лімфоцитів у крові лускатих коропів і сазанів в осінній період та у сазанів у літній період досліджень. Щодо ступеня їх диференціації, то зміни кількості Th-лімфоцитів у крові лускатих коропів і сазанів у вказані періоди досліджень відбувались за рахунок збільшення популяції низькоавідних Th-клітин і зменшення – «нульових», недиференційованих у функціональному відношенні теофілін-резистентних Т-лімфоцитів. Проведені дослідження показали що, кількість теофілін-чутливих Т-лімфоцитів у крові сазанів та в рамчастих коропів у літній і осінній періоди зросла порівняно до їх кількості у весняний період досліджень. При цьому у крові рамчастих коропів і сазанів у літній і осінній період кількість Т-хелперів була більша, а у весняний період – менша, ніж у лускатих коропів.

Констатовано зменшення величини імунорегуляторного індексу у крові рамчастих коропів і сазанів у літній і осінній періоди досліджень порівняно до весняного. Водночас у лускатих коропів зафіксовано вищу лімфоцитарну активність у літній і осінній періоди порівняно до весняного.

Таким чином отримані нами результати досліджень свідчать з одного боку про значний вплив сезонних факторів на лімфоцитарну активність у крові коропових риб, а з іншого – про породні особливості співвідношення імунорегуляторних клітин.

Одним із важливих параметрів функціональної активності лімфоцитів периферичної крові є показник бластної трансформації (РБТЛ) [286]. Результати наших досліджень показали, що, кількість бластних клітин у крові лускатих коропів і сазанів в осінній період більша ($p < 0,001$), ніж у весняний. При цьому у

крові лускатих коропів у літній період за дії на Т-лімфоцити мітогену ФГА відбувалося пригнічення реакції бластної трансформації Т-лімфоцитів, порівняно з весняним періодом досліджень. Разом з цим у крові рамчастих коропів порівняно до лускатих у весняний і літній період досліджень зафіксовано посилення імунної відповіді Т-лімфоцитів крові до бластної трансформації на фітогемаглютинін. Вірогідне збільшення кількості бластних клітин у крові рамчастих коропів вказує на те, що проходить активація процесів клітинної проліферації, посилення мітогенезу лімфоцитів і підвищення їх функціональної активності.

При дослідженні В-системи імунітету нами констатовано вірогідно меншу кількість В-лімфоцитів у крові рамчастих і лускатих коропів і сазанів у осінній період, порівняно до весняного. Ці зміни кількості ЕАС-РУЛ у крові рамчастих коропів і сазанів відбувалися на тлі зменшення кількості «нульових» і збільшення середньоавідних В-лімфоцитів.

Таким чином результати проведених нами експериментальних досліджень свідчать, що кількість Т- і В-лімфоцитів у крові коропових риб та їх функціональна активність значною мірою залежить від впливу сезонних факторів і породних характеристик. Результати наших досліджень узгоджується з даними інших авторів. Зокрема у дослідженнях показано, що сезонність впливає на імунну функцію райдужної форелі (*Oncorhynchus mykiss* L.), при тому, що кількість Т-лімфоцитів більша - влітку, а менша у зимовий період. За даними [55] кількість Т-лімфоцитів у коропа при температурі води нижче 4°C вірогідно зменшується, а за температури 22-26°C – збільшується.

При аналізі породних особливостей досліджуваних риб, необхідно зауважити, що вищий потенціал клітинної ланки специфічної імунної відповіді було зафіксовано у рамчастих коропів і сазанів. Про що свідчить більша, ніж у лускатих коропів кількість Т- і В-лімфоцитів у крові та вища їх функціональна активність.

Імунна система риб, як і вищих хребетних, забезпечує саморегуляцію за допомогою безпосереднього контакту клітин, а також за допомогою специфічних та неспецифічних факторів захисту [161]. Результати дослідження показали, що

активність клітинних і гуморальних факторів природної резистентності організму досліджуваних порід риб зазнавала суттєвих змін упродовж різних періодів вирощування, що свідчить про залежність неспецифічних механізмів захисту від впливу сезонних чинників. Зокрема, у лускатих коропів бактерицидна і лізоцимна активність сироватки крові, показники фагоцитозу в осінній, і, особливо у літній періоди були нижчими, ніж у весняний. Водночас, вміст циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові в осінній період мав тенденцію до зростання. Подібні зміни клітинних і гуморальних факторів неспецифічних механізмів захисту виявлено також у крові сазанів. Сезонні зміни показників неспецифічної резистентності у крові любінських рамчастих коропів були виражені меншою мірою, ніж у інших досліджуваних видів риб.

Загалом, отримані результати наших досліджень свідчать про нижчий рівень показників неспецифічної резистентності у лускатих і рамчастих коропів та сазанів у літній та осінній періоди порівняно з весняним, що може бути зумовлено температурою води і зростанням антигенного навантаження на організм коропів і, як наслідок, зниження імунного потенціалу організму.

Інші дані були отримані при дослідженні температурних режимів на активність неспецифічних факторів захисту у доради (*Sparus aurata* L.). Результати досліджень цих авторів показали, що при зниженні температури водного середовища підвищується активність показників неспецифічної резистентності [272].

Деякі автори частково заперечують ці дослідження [276], стверджуючи що сезонні цикли є важливими та модулюють кілька аспектів поведінки риб. Результати цих досліджень свідчать, що не всі вроджені імунні параметри пригнічуються низькими температурами у європейського морського окуня (*Dicentrarchus labrax*). Більше того, деякі з них значною мірою залежать від сезону, ніж інші, температура та фотоперіод є взаємопов'язані між собою.

Стосовно породних особливостей показників природної резистентності у досліджуваних корошових риб необхідно зауважити, що бактерицидна і лізоцимна активність сироватки крові, а також фагоцитарна активність нейтрофілів,

фагоцитарне число та індекс у крові рамчастих коропів у весняний і літній періоди були меншими, ніж у вказані періоди досліджень у лускатих коропів. При цьому у рамчастих коропів порівняно до лускатих в осінній період констатовано нижчу фагоцитарну активність нейтрофілів крові. Ці дані свідчать про нижчу активність природних механізмів захисту в організмі рамчастих коропів порівняно до лускатих. Ці різниці можуть бути детерміновані генетично, про що свідчить більш стабільний генетичний апарат у любінських лускатих, ніж у любінських рамчастих коропів [39].

У наших досліджень зафіксовано вищі показники неспецифічної резистентності у сазанів порівняно до любінських лускатих і рамчастих коропів. Більший потенціал природних механізмів захисту у сазанів ймовірно сформувався впродовж тривалої еволюції у різних умовах існування та у різних кліматичних зонах [16]

Узагальнюючи отримані дані, необхідно зауважити, що на стан імунного потенціалу і систему антиоксидантного захисту впливають температурні фактори, вміст кисню у воді та зростання антигенного навантаження на організм корошових риб. Стосовно породних особливостей, проведені дослідження показали, що у сазанів порівняно до любінських лускатих і рамчастих коропів констатовано значно вищий потенціал імунного та антиоксидантного захисту.

Вітаміни відіграють значну роль у регуляції природної й адаптивної імунної відповіді [225]. Жиророзчинні вітаміни володіють широким спектром біологічної дії, забезпечують нормальний перебіг біохімічних та фізіологічних процесів в організмі, вони проявляють вплив на різні ланки обміну речовин, а також мають антиоксидантні та імуномодулюючі властивості [255]. Зокрема, вітамін А відіграє важливу роль у забезпеченні функції імунної й антиоксидантної систем, вітамін D регулює обмін Кальцію та Фосфору і бере участь у формуванні кісткової тканини, вітамін Е важливий для забезпечення антиоксидантного захисту в організмі риб і їх розмноження [42]. Проте кількісна потреба вітамінів, а також їх вплив на імунну функцію та антиоксидантну систему в організмі риб вивчена лише у деяких видів [268].

Роль мікроелементів у організмі риби подібна до їх ролі в інших живих організмів. Вони входять до складу тваринних організмів як компоненти гормонів та ферментів, що забезпечують їх фізіологічну функцію та відповідну інтенсивність обміну речовин [276]. За даними ряду дослідників, у риби в якості простетичних груп ензимів та стимуляторів окремих ланок обміну речовин використовуються ті ж мікроелементи, що і в теплокровних тварин [57]. Головна відмінність риби від наземних хребетних полягає в тому, що вони отримують мікроелементи не тільки з кормом, але і безпосередньо з води через зябра та шкіру [112]. Важливим залишається питання про вплив жиророзчинних вітамінів та мікроелементів на обмін речовин в організмі карпових риби і визначення найбільш критичних періодів для їх застосування. Про те дані літератури свідчать про поодинокий вплив вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Цинку, Селену та Йоду у складі комбікормів та преміксів на антиоксидантну та імунну системи [80, 83, 84,].

У зв'язку з цим, мета наступного етапу роботи полягала у з'ясуванні комплексного впливу жиророзчинних вітамінів А, D₃, Е і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду у складі біологічно активної добавки до комбікорму на інтенсивність окисних процесів, активність системи антиоксидантного захисту, гематологічний профіль, активність клітинної і гуморальної ланок імунітету в організмі карпа і сазана в кінці вегетаційного періоду.

Проведені дослідження показали, що вміст Цинку та Селену в органах і тканинах карпових риби нагромаджувався значно більшою мірою у печінці, ніж у м'язах. Отримані результати свідчать, що застосування у складі вітамінно-мінеральної добавки вітамінів А, D₃, Е, Цинку, Селену і Йоду призводить до зростання вмісту Цинку та Селену у печінці і скелетних м'язах у карпа рамчастого та сазана. Зростання вмісту Цинку та Селену в досліджуваних тканинах карпових риби викликало зміни активності основних антиоксидантних ензимів. Зокрема, констатовано підвищення супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази активності у печінці сазанів та глутатіонпероксидази активності у печінці рамчастих карпів. При цьому зафіксовано значне (більше, ніж у двічі) підвищення каталази активності у крові як карпів, так і сазанів. Це може вказувати на вищий

потенціал антиоксидантного захисту у сазанів. Про що також свідчать вища СОД і ГП активності у нирках сазанів і ГП активність у нирках рамчастих коропів. Подібні зміни активності вказаних ензимів, тільки виражені меншою мірою, констатовано також у м'язах коропів.

Результати цих досліджень свідчать про позитивний вплив згодовування вітамінно-мінеральної добавки, і особливо Селену та Цинку у її складі, на активність антиоксидантних ензимів в організмі коропових риб, що узгоджується з даними інших авторів [14].

Дослідження показали, що згодовування вітамінно-мінеральної добавки спричиняло збільшення вмісту відновленого глутатіону в печінці, нирках і скелетних м'язах коропових риб. Про те цей вплив був виражений більшою мірою у рамчастих коропів, ніж у сазанів. Відомо, що завдяки підвищенню вмісту GSH тканини риб отримують опосередкований захист.

Підвищення активності антиоксидантних ензимів спричинило зміни вмісту проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ. Зокрема, вміст ТБК-активних продуктів і гідроперекисів ліпідів у плазмі крові сазанів зменшився.

Ці дані свідчать про інгібуючий вплив жиророзчинних вітамінів, які є природними антиоксидантами та мікроелементів, особливо Селену та Цинку, які входять до активних центрів антиоксидантних ензимів, на процеси ліпідної пероксидації в організмі риб [14, 63]. Водночас таке зменшення концентрації продуктів пероксидного окиснення ліпідів можна також пояснити виявленим нами зростанням активності ключових ензимів антиоксидантного захисту.

Загалом, отримані результати дають підставу стверджувати, що зменшення інтенсивності процесів ПОЛ у досліджуваних тканинах коропових риб пов'язане із впливом жиророзчинних вітамінів і мікроелементів на активність ензимів антиоксидантного захисту в їх організмі.

Кількісна потреба в жиророзчинних вітамінах, особливо мікроелементів Цинку, Йоду та Селену, а також їх вплив на гематологічні показники в риб вивчена лише в деяких видів [15, 259].

Результати наших досліджень показали, що кількість еритроцитів, гематокритна величина, вміст гемоглобіну та середня концентрація гемоглобіну в еритроциті в крові коропа і сазана були більшими. При цьому зазначимо, що вказані зміни були виражені більшою мірою в крові сазанів, ніж у рамчастих коропів. Збільшення кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну та гематокриту в крові коропів дослідних груп можна пояснити підвищенням гемопоетичної функції кісткового мозку й інтенсивності окисно-відновних процесів у тканинах риб за дії вітамінів А, D₃, Е і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду у складі біологічно активної добавки. Збільшення вмісту еритроцитів у крові коропів, імовірно, обумовлено наявністю у складі досліджуваної добавки вітаміну Е – єдиного наявного в мембранах еритроцитів антиоксиданту, який їх захищає від ПОЛ, крім цього мембрани еритроцитів містять α -токоферол-зв'язуючий протеїн, що забезпечує його міжорганний транспорт. Вітамін D₃ впливає на розвиток стовбурових гемопоетичних клітин [51]. До того ж ці дані можна пояснити дією Селену, який входить до складу вітамінно-мінеральної добавки [2, 9].

Загалом, отримані результати досліджень свідчать про позитивний вплив вітамінно-мінеральної добавки на киснево-транспортну функцію крові в риб. Ці зміни можна пояснити комплексною стимулювальною дією жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду у складі біологічно активної добавки на гематологічний профіль досліджуваних коропових риб.

Лейкоцити в риб представлені різновидними за структурною організацією клітинами: нейтрофілами, еозинофілами, базофілами, моноцитами, лімфоцитами.

Згодовування рибам дослідних груп біологічно активної добавки істотно не впливало на співвідношення окремих форм лейкоцитів у крові, проте спричинило тенденцію до зростання кількості моноцитів та сегментоядерних нейтрофілів, при цьому кількість лімфоцитів зменшилася, що вказує на реактивність організму риб. Так, зростання кількості сегментоядерних нейтрофілів і моноцитів підтверджує стимулювальний вплив досліджуваної добавки на моноцитарно-макрофагальну ланку імунної відповіді. Як відомо, нейтрофіли і моноцити володіють

фагоцитарними властивостями, а зростання їх кількості підкреслює думку про зміцнення клітинної ланки неспецифічної резистентності організму риби [25].

Дослідження показали, що згодовування ридам вітамінів А, D₃, Е, Йоду, Цинку і Селену сприяло збільшенню у межах фізіологічної норми кількості моноцитів і сегментоядерних нейтрофілів та зменшенню кількості лейкоцитів і лімфоцитів у їх крові, що позитивно впливало на імунну функцію крові, особливо в сазанів.

Зокрема, результати наших досліджень показали, що згодовування коропам жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку і Йоду у складі добавки до комбікорму стимулює активність клітинної та гуморальної ланок природної резистентності організму. Про що свідчить вища ($p < 0,05-0,01$) фагоцитарна, лізоцимна і бактерицидна активність крові у риби дослідних груп порівняно до контролю. Це можна пояснити комплексною адаптивною дією вказаних чинників у складі вітамінно-мінеральної добавки на неспецифічні механізми захисту організму. Цей вплив був виражений більшою мірою в організмі сазанів, ніж у рамчастих коропів.

Зокрема, вітамін А, оптимізує структурну організацію клітинних мембран, що позитивно впливає на рецепторний апарат імунокомпетентних клітин [50]. Разом з тим важливо підкреслити, що відомі на сьогодні механізми участі досліджуваних жиророзчинних вітамінів і мікроелементів забезпечують широкий спектр метаболічних процесів, які визначають, перш за все, рівень клітинних і гуморальних імунних реакцій, підтримання генетичного гомеостазу організму риби.

Є дані Вей Ваньцюана зі співавторами де показано, що згодовування вітамінів А, D₃, Е, К, вітамінів групи В та вітаміну С у складі преміксу для морських риби підвищувало специфічну та неспецифічну ланки імунної системи риби [47J].

Досліджувані жиророзчинні вітаміни і мікроелементи Селен, Цинк та Йод у складі добавки до раціону коропів впливали на кількість Т- і В-лімфоцитів у крові та їх функціональну активність. Констатовано більшу кількість ТЕ-РУЛ у крові рамчастих коропів за дії вітамінно-мінеральної добавки. Ці зміни відбувалися на тлі зменшення у крові кількості «нульових», недиференційованих у

функціональному відношенні лімфоцитів та тенденції до збільшення кількості ТЕ-РУЛ з низькою і середньою щільністю рецепторів.

Подібні результати, тільки виражені меншою мірою, отримані нами при дослідженні кількості «активних» Т-лімфоцитів (ТА-РУЛ), які мають високоафінні рецептори до індикаторних клітин (еритроцитів) і активно взаємодіють з ними без додаткової сенсibilізації. Ці дані свідчать, що досліджувані жиророзчинні вітаміни і мікроелементи Селен, Цинк та Йод у складі добавки до раціону коропів позитивно впливали на рецепторний апарат імунокомпетентних клітин, і зокрема підвищують функціональну активність ТА-РУЛ.

Як показали результати досліджень, кількість ефektorних Т-лімфоцитів у крові риб також залежала від впливу досліджуваних чинників. Проте цей вплив був виражений більшою мірою у крові сазанів, ніж у рамчастих коропів. При цьому у крові рамчастих коропів і сазанів зафіксовано тенденцію до збільшення кількості теофілін-чутливих Т-лімфоцитів крові.

Дослідження показали, що згодовування коропами упродовж місяця жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку та Йоду у складі добавки до раціону викликало зниження лімфоцитарної активності й істотно не впливало на функціональну активність Т-лімфоцитів у реакції бластної трансформації, а також на кількість і функціональну активність антиген-незалежних В-лімфоцитів крові.

Таким чином результати проведених досліджень показали, що згодовування коропам упродовж місяця жиророзчинних вітамінів і мікроелементів Селену, Цинку та Йоду у складі добавки до комбікорму спричиняло стимулювальний вплив на кількість і функціональну активність Т-лімфоцитів крові, особливо у рамчастих коропів.

Зафіксовано вірогідно меншу кількість теофілін-резистентних Т-лімфоцитів у крові сазанів. Підвищення функціональної активності Т-лімфоцитів у крові рамчастих коропів відбувалося за рахунок перерозподілу рецепторного апарату імунокомпетентних клітин. Зокрема, зменшення у крові кількості

неактивних у функціональному відношенні Т-лімфоцитів і збільшення клітин із низькою щільністю рецепторів. Це можна пояснити комплексною адитивною дією вказаних чинників у складі вітамінно-мінеральної добавки на специфічні механізми захисту організму.

Короп рамчастий та сазан, яким згодовували, гранульований комбікорм і такий самий корм з вітамінно-мінеральною добавкою, росли значно краще, ніж риби, які споживали лише сам гранульований комбікорм.

У цілому результати проведених досліджень показали, що додаткове введення до складу комбікорму жиророзчинних вітамінів А, D₃, Е та мікроелементів Zn, Se, І призводить до збільшення вмісту Zn та Se у м'язах та печінці коропових риб, позитивно впливає на гематологічний профіль, сприяє покращенню імунного потенціалу й антиоксидантного захисту, підвищує ріст та знижує інтенсивність пероксидних процесів.

Узагальнюючи отримані дані, необхідно зауважити що на стан гематологічного профілю, імунного потенціалу та антиоксидантного захисту впливають температурні фактори. Стосовно породних особливостей, можна відмітити, що вищу неспецифічну резистентність і стан антиоксидантної системи спостерігали у сазана, що свідчить про більший його потенціал природних механізмів захисту.

Споживання короповими рибами біологічно активної добавки, до складу якої входили жиророзчинні вітаміни А, D₃, Е та мікроелементи Zn, Se, І, підвищує стан цих систем, зокрема функціонування окисно-відновних процесів.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі експериментально розв'язано наукове завдання щодо визначення породних і сезонних особливостей функціонування імунної й антиоксидантної систем у корошових 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 корошов 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 корошов у весняний і осінній періоди та гідропероксидів ліпідів у осінній період менший ($p < 0,01-0,001$), ніж у лускатих корошов. 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 корошов, порівняно з лускатими, констатовано вищу глутатіонпероксидазну і нижчу каталазну активність ($p < 0,05-0,001$). Водночас у рамчастих корошов 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 корошових 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 коропових 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 рибам 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 коропів 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 коропів.

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 коропів. При цьому зафіксовано вірогідно меншу кількість теофілінрезистентних Т-лімфоцитів у крові сазанів. Підвищення функціональної активності Т-лімфоцитів у крові рамчастих коропів 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 коропу 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 корокових риб в кінці вегетаційного періоду впродовж місяця рекомендується застосовувати вітамінно-мінеральну добавку згідно розроблених методичних рекомендацій.

ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Апатенко В. М. Ветеринарна імунологія та імунопатологія Київ : Урожай, 1994. 128 с.
2. Антоняк Г. В., Хомич Н. П. Вплив шестивалентного Хрому на активність ензимів гліколізу та пентозофосфатного шляху в лейкоцитах крові кроликів. *Біологія тварин*. 2014. Т. 16, № 1. С. 21–28.
3. АС № 1084681 СССР, МКИ G № 33/48. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях / Мирончик В. В. (СССР). № 3468369/28-13; заявл. 08.07.82; опубл. 07.04.84, Бюл. № 13.
4. Біохімічна та геохімічна роль йоду : монографія / Г. Л. Антоняк, В. В. Влізло. Львів : ЛНУ ім. Івана Франка, 2013. 392 с.
5. Барабой В. А. Биоантиоксиданты. К. : Книга плюс, 2006. 460 с.
6. Біяк В. Я, Синюк Ю. В., Курант В. З. Видові особливості фракційного складу білків сироватки крові прісноводних риб. *Доп. Нац. акад. наук України, Тернопіль. нац. пед ун-т ім. В. Гнатюка*. 2008. № 4. С. 189–192.
7. Болотников И. А., Конопатов Ю. В. Физиолого-биохимические основы иммунитета сельскохозяйственной птицы. Д. : Наука, 1987. 164 с.
8. Бучко О. М. Зміни інтенсивності перекисного окислення ліпідів і активності антиоксидантних ферментів в окремих органах і тканинах тварин протягом онтогенезу. *Біологія тварин*. 2004. Т. 6, № 1–2. С. 11–17.
9. Витамин D и костная система / Г. В. Гайко, А. В. Калашников, А. Т. Бруско, Л. И. Апуховская. К. : Книга плюс, 2008. 176 с.
10. Волынкин Ю. Л. Взаимосвязь морфофизиологических и гематологических показателей сеголетков карпа в период зимовки. *Современные проблемы популяционной экологии: Матер. IX Междунар. научно-практ. конф.* 2006. Белгород, 2006. С. 37–38.
11. Вплив ліпосомального препарату з вітамінів А, Е та мікроелементів Zn, Se, І на фізіологічний стан плідників коропа у переднерестовий період /

Ю. М. Забитівський, С. В. Юрчак, Л. Й. Бобеляк, І. І. Гевкан. *Рибогосподарська наука України*. 2014. № 4. С.86–94.

12. Влізло В. В. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / В. В. Влізло зі співавт. Львів : Сполом, 2012. 355–369.

13. Вплив мікродобавок з вмістом кобальту і Цинку на системи антиоксидантного захисту та процеси перекисного окиснення ліпідів у тканинах коропів / С. І. Крась, І. І. Грициняк, С. І. Тарасюк, М. В. Крась. *Рибогосподарська наука України*. Київ, 2009. № 1. С. 88–93.

14. Вплив сполук селену на стан системи антиоксидантного захисту та процеси перекисного окиснення ліпідів у тканинах коропів звичайних (*Cyprinus carpio* L.) С. І. Крась, І. І. Грициняк, О. Іккерт, К. М Глазунова. *Вісник Львів. ун-ту. Серія біологічна*. Львів, 2008. С. 157–161.

15. Вплив різних форм селену і йоду на рибницькі та гематологічні показники дворічок риб / І. І. Грициняк зі співавт. *Вісник аграрної науки*. 2013. № 3. С. 30–33. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vaan_2013_3_9.

16. Грициняк І. І., Нагорнюк Т. А., Тарасюк С. І. Генетична структура порід і породних груп коропів за окремими генетико-біохімічними системами. *Рибогосподарська наука України*. 2008. № 1. С. 29–35.

17. Грициняк І. І. Науково-практичні основи раціональної годівлі риб. К. : Рибка моя, 2007. 237 с.

18. Грициняк І. І. Обмін ліпідів у риб : моногр. / І. І. Грициняк, К. Б. Смолянінов, В. Г. Янович ; за ред. В. В. Влізла. Львів : «Тріада плюс», 2010. 335 с.

19. Грициняк І. І., Третяк О. М. Пріоритетні напрями наукового забезпечення рибного господарства України. *Рибогосподарська наука України*. 2007. № 1. С. 5–20.

20. Гудима В. Ю., Вудмаска І. В. Вплив вітаміну D₃ на морфологічні показники крові та неспецифічну резистентність курей-несучок. *Біологія тварин*. 2014. Т. 16, № 4. С. 30–36.

21. Данчук В. В. Пероксидне окиснення у сільськогосподарських тварин і птиці. Кам'янець-Подільський : АБЕТКА, 2006. 190 с.

22 Давыдов О. Н., Куровская Л. Я., Темниханов Ю. Д. Личинки гельминтов гидробионтов, патогенные для человека и теплокровных животных *Гидробиологический журнал*. 2004. Т. 40, № 3. С. 103–111.

23 Діагностика і профілактика цинкової недостатності у сільськогосподарських тварин у біогеохімічних зонах України / М. О. Судаков, В. І. Береза, І. Г. Погурський, М. І. Цвіліховський, В. С. Січкач. *Ветеринарна медицина України*. 2002. № 3. С. 21–22.

24. Дорофейчук В. Г. Лизоцимная активность сыворотки крови. *Лабораторное дело* 1986. № 1. С. 28–34.

25. Дрогомирецька І. З., Мазепа М. А. Сезонні та вікові особливості лейкоцитів периферійної крові коропа (*Cyprinus carpio L.*) *Біологія тварин*. 2008. № 1–2. С. 116–121.

26. Дубинина Е. Е., Сальникова Л. Я., Ефимова Л. Я. Активность и изоферментный спектр СОД эритроцитов. *Лабораторное дело* 1983. № 10. С. 30–33.

27. Жирорастворимые витамины в промышленном птицеводстве / П. Ф. Сурай, А. А. Бужин, Ф. А. Ярошенко, И. А. Ионов. Черкассы, 1997. 296 с.

28. Жиророзчинні вітаміни у ветеринарній медицині та тваринництві : монографія / В. В. Влізло, Б. М. Куртяк, І. В. Вудмаска та ін.[2-ге вид., доп. і переробл.]; Львів : СПОЛОМ, 2015. 436 с.

29. Залепухин В. В. Гематологический анализ в оценке производителей карповых рыб. *Стрежень. Научный ежегодник*. 2004. В. 4. С. 79–85.

30 Иванова Н. Т. Атлас клеток крови рыб : сравнительная морфология и классификация формен. элементов крови рыб : Легкая и пищевая промышленность. 1983. 77 с.

31. Імуномодулююча дія вітаміну D₃ та бісфосфонатів при аліментарному остеопорозі в щурів / В. М. Рясний зі співавт. *Український біохімічний журнал*. 2012. Т. 84, № 2. С. 73–80.

32. Іхтіопатологія : підручник / Н. І. Вовк, В. Й. Божик. К. Агроосвіта. 2014. 308 с.
33. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике ; 2-е изд., перераб. и доп. М : Медпресс-информ, 2004. 911 с.
34. Кернасюк Ю. В. Рибництво : потенціал є! *Агробізнес сьогодні*. 2014. № 11. 282 с. Режим доступу: <http://agro-business.com.ua/agro/ekonomichnyi-hektar/item/7880-rybnytstvo-potentsial-ie.html>
35. Коробейникова Є. Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой *Лабораторное дело* 1989. № 7. С. 8–9.
36. Крась С. І., Тарасюк С. І., Маріуца А. Е. Генетична характеристика стада амурського сазана (*Cyprinus carpio haematopterus*) рибогосподарства "Лісневичі". *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім.С.З.Гжицького*. 2011. Т. 13, № 4(3). С. 155– 160. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2011_13_4%283%29__31
37. Крась С. І., Тарасюк С. І. Тканинна специфіка функціонування антиоксидантної системи та пероксидного окислення ліпідів в амурського сазана різних вікових груп. *Український біохімічний журнал* 2011. Т. 83, № 4. С. 72–78.
38. Кравців Ю. Р., Маслянюк Р. П. Т-лімфоцити і їх регуляторні функції / *Науковий вісник ЛНАВМ ім. С. З. Гжицького*. 2007. Т. 9, № 1(32). С. 308–318.
39. Кравців Р. Й., Маслянюк Р. П., Кравців Я. С. Цинк як модулятор імунної системи. *Міжнародна науково-практична конференція «ІЕКВМ – 80 років на передовому рубежі ветеринарної науки»* Харків, 2002. С. 24–27.
40. Кравців Р. Й., Романишин В. П. Ветеринарна ендокринологія. Львів, 2001. 154 с.
41. Кравців Р. Й., Янович Н. Є. Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у тканинах коропа за різного вмісту Zn, Cu, Mn, і Se у воді. *Біологія тварин*. Львів, 2007. Т. 9, № 1–2. С. 113–116.

42. Лебська Т., Голембовська Н. Харчова цінність коропа *Cyprinus Carpio* і товстолобика *Hypophthalmichthys spp* осіннього вилову. *Техніка і технології АПК*. 2014. № 5. С. 26–29. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Titapk_2014_5_10
43. Леус Ю. В Грубинко В. В.,. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у рыб. *Гидробиологический журнал* 2001. Т. 37, № 1. С. 64–78.
44. Лук'яненко В. Й. Імунологія риб. Вроджений імунітет. Москва, 1983. 269 с.
45. Лушак В. І., Багнюкова Т. В., Лужна Л. І. Показники оксидативного стресу. 2. Пероксиди ліпідів. *Український біохімічний журнал* 2006. Т. 78, № 5. С. 113–119.
46. Лянзберг О. В., Шерман І. М. Динаміка гематологічних показників коропових риб протягом зимового утримання. *Рибгосподарська наука України*. 2008. № 4. С. 54–58.
47. Любенко Я. М. Місце і значення імуномодуляторів у загальній ветеринарній профілактиці. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С. З. Гжицького*. 2008. Т. 10, № 2 (37), ч.1. С. 207–219.
48. Мазур Т. В., Гаркуша І. Є. Біохімічний та клітинний склад крові коропа звичайного за впливу експериментального пробіотику на основі *Bacillus Subtilis* та *Lactobacillus Acidophilus* *Науковий вісник НУБіП. Серія «Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва»* / Редкол.: С. М. Ніколаєнко (відп. ред.) та ін. К.: Ред.-вид. відділ НУБіП України, 2015. 238 с
49. Мерва А. В., Янович В. Г. Активність антиоксидантної системи в тканинах коропа за різним вмістом селену у воді *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок УААН*. 2006. № 1, 2. С. 79–82.
50. Метаболічні аспекти формування кисневого гомеостазу в екстремальних станах / М. Ф. Тимочко, О. П. Єлісєєва, Л. І. Кобилінська, І. Ф. Тимочко. Львів, 1998. 142 с.

51. Мухіна Н. В. Корми і біологічно активні кормові добавки для тварин. М.: Колос. 2008. 27 с.

52. Методичні рекомендації для оцінки та контролю імунного статусу тварин: визначення факторів неспецифічної резистентності, клітинних і гуморальних механізмів імунітету проти інфекційних захворювань / Р. П. Маслянюк, І. І. Олексюк, А. І. Падовський та співавт. Львів, 2001. 87 с.

53. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев *Лабораторное дело* 1988. № 1. С. 16–18.

54. Методика определения уровня восстановленного глутатиона в эритроцитах крови : Методическиэ рекомендации по дифференциальной диагностике различных форм ишемической болезни сердца с использованием определение компонентов глутатионовой противоперекисной каталитической системы в эритроцитах крови / Батлер Е. со авт. 1963. С. 16–20.

55. Микряков В. Р., Балабанова Л. В. Физиологические реакции иммуноцитов рыб *Вопросы эволюционной физиологии : тез. докл.* Л.: Наука, 1984. С. 204–205.

56. Микряков В. Р. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды. М.; Наука 2001. 126 с.

57. Мікроелементози сільськогосподарських тварин / М. О. Судаков, В. І. Береза, І. Г. Погурський та ін.; За ред. М. О. Судакова : 2-е вид., перероб. і доп. К.:Урожай. 1991. 141 с.

58. Морозов А. А., Чуйко Г. М., Подгорная В. А. Органная специфика антиоксидантной системы леща *Abramis brama L.* из Рыбинского водохранилища. *Организмы, популяции, экосистемы: проблемы и пути сохранения биоразнообразия* : Всерос. конф., 24–28 окт. 2008 : тезисы докл. Х., 2008. С. 75–77.

59. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах *Лабораторное дело* 1986. № 12. С. 724–727.

60. Меньшикова Е. Б., Зенков Н. К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов *Успехи совр. биол.* 1993. Вып. 113, № 4. С. 442–455.

61. О значении перекисных процессов у водных и полуводных животных / В. П. Галанцев, С. Г. Коваленко, А. Т. Петров из соавтр. *Исследование морфофункциональных адаптаций*. Ленинград : Наука, 1989. С. 13–21.

62. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты /Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин, Н. К. Зенков и др. М.: Фирма „Слово”, 2006. 556 с.

63. Олексюк Н. П. Активність антиоксидантних ферментів і вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у скелетних м'язах коропа при додаванні до раціону мікроелементного преміксу *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин*. 2008. В. 9, № 1, 2. С. 50–52.

64. Олексюк Н. П. Видові та сезонні особливості пероксидних процесів і антиоксидантного захисту в організмі ставкових риб : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : спец. 03.00.04 «Біохімія» Львів, 2011. 19 с.

65. Олексюк Н. П. Вплив сезону на перекисне окиснення ліпідів у тканинах ставкових риб. *Біологія тварин*. 2003. Т. 5, Вип. 1–2. С. 180–183.

66. Олексієнко О. О. Грициняк І. І. Внутрішньопорідна структура українських коропів. *Рибогосподарська наука України*. 2007. № 1. С. 21–27. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/gnu_2007_1_5

67. Олексюк Н. П., Куртяк Б. М., Янович В. Г. Вплив сезону на активність системи антиоксидантного захисту в печінці та скелетних м'язах білого амура. *Науково-технічний бюлетень Інституту біол. тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок*. 2008. В. 9, № 3. С. 79–84.

68. Олексюк Н. П., Янович В. Г. Вміст вітамінів А, Е і каротиноїдів у печінці і скелетних м'язах ставкових риб різних видів. *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин*. Львів, 2002. С. 108–111.

69. Олексюк Н. П., Янович В. Г. Вплив сезону на активність системи антиоксидантного захисту в печінці і скелетних м'язах товстолобика. *Біологія тварин* 2007. Т. 9. Вип. 1–2. С.123–126.

70. Олексюк Н. П., Янович В. Г. Вплив сезону на активність антиоксидантних ферментів у тканинах коропа. *Біологія тварин*. 2006. Т. 8, № 1– 2.

С. 145–148.

71. Олексюк Н. П., Янович В. Г. Активність про- і антиоксидантних систем у печінці прісноводних риб у різні пори року. *Український біохімічний журнал* 2010. Т. 82, № 3. С.41–48.

72. Особа І. А. Біологічна роль перекисного окиснення ліпідів у забезпеченні функціонування організму риб. *Рибогосподарська наука України*. 2013. № 1. С. 87–96.

63. Особа І. А. Вміст продуктів вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів у скелетних м'язах та печінці однорічок лускатих та рамчастих коропів несвицького зонального типу. *Біологія тварин*. 2012. Т. 14. № 1,2. С. 179–183.

74. Особа І. А., Грициняк І. І. Динаміка активності неферментативної ланки системи антиоксидантного захисту крові коропів несвицького зонального типу в процесі онтогенезу. *Рибогосподарська наука України*. 2010. № 4. С. 105–110.

Особа І. А. Особливості функціонування системи антиоксидантного захисту організму. *Рибогосподарська наука України*. Київ, 2009. № 1. С. 133–139.

76. Остроумова Н. И. Биологические основы кормления рыб. Санкт-Петербург : Комплекс, 2001. 372 с.

77. Парфенова И. А. Морфометрические характеристики циркулирующих эритроцитов *Scorpaena porcus* L. в условиях экспериментальной гипоксии. *Науков. Записки Тернопольського нац. Пед. Ун. Серія: біологія*. 2005. № 4(27). С.82–83.

78. Пасічна Е. П., Донченко Г. В., Морозова Р. П. Дія вітаміну D₃ на розвиток оксидативного стресу та ліпідного дисбалансу в тканині мозку щурів за умов експериментального аутоімунного енцефаломієліту. *Біологія тварин*. 2010. Т. 12. № 1. С. 204–211.

79. Петрів В. Б., Пірус Р. І., Янович В. Г. Вміст зв'язаного з білком йоду і тиреоїдних гормонів у крові ставових риб за різного вмісту йоду у воді *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин та Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок*. 2008. В. 9, № 3. С. 135–137.

80. Петрів В. Б. Концентрація йоду в скелетних м'язах коропа і товстолобика за різним вмістом йоду у воді ставу. *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин та Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок*. Львів. 2006. В.7. № 1,2. С. 131–134.

81. Попик І. М. Вплив різних доз вітаміну А на стан про- й антиоксидантної систем у крові коропа *Біологія тварин* 2012. Т. 14. № 1,2. С. 184–187.

82. Попик І. М., Віщур О. І Вплив вітаміну А на природну резистентність організму самок-плідників коропів залежно від його рівня у раціоні *Ветеринарна біотехнологія*. 2013. № 23. С. 211–212.

83. Попик І. М. Стан про- і антиоксидантної систем у печінці коропа при додаванні до раціону різних доз вітаміну А *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин НААН та ДНДКІ ветпрепаратів і кормових добавок* 2012. Вип. 13, № 1,2. С. 44–49.

84. Попик І. М, Віщур О. І. Активність Т- і В-клітинної ланок імунітету у крові коропа залежно рівня вітаміну А у раціоні. *Ветеринарна медицина: Міжвідомчий тематичний науковий збірник*. Харків, 2013. № 97. С. 277–278.

85. Прайс В. Аналитическая атомно-абсорбционная спектроскопия. М. : Мир, 1976. 354 с.

86. 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.

87. Руденко О. П., Віщур О. І., Коваленко В. Л. Видові та сезонні особливості неспецифічної резистентності коропових риб. *Ветеринарна біотехнологія*. Київ, 2016. Вип. 28. С. 241–246.

88. Руденко О. П., Віщур О. І. Сезонні та породні особливості пероксидних процесів і активність ензимів системи антиоксидантного захисту у коропових риб. *Біологія тварин*. Львів, 2016. Т. 18, № 4. С. 72–77.

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

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

91. 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. – URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nd_2017_2_23.

92. 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 Всеукраїнська науково-практична конференція*. Львів, 2014. С. 206.

93. Руденко. О. П., Віщур О. І. Видові та сезонні особливості неспецифічної резистентності корокових риб. *Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини : міжнародна науково-практична конференція* Львів, 2015. С. 202.

94. 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 міжнародної науково-практична конференції*. Львів, 2016. С. 181.

95. 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. Науково-практичної конференції*. Львів, 2016. С. 182.

96 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. P. 149.

97. Руденко. О. П., Віщур О. І. Природна резистентність коропа і сазана за дії вітамінно-мінеральної добавки. *Сучасні проблеми біології, екології та хімії : матеріали V Міжнародна науково–практична конференції*. Запоріжжя, Тандем 2017. С. 174.

98. Руденко О. П. Гематологічний профіль крові риб за дії вітамінно-мінеральної добавки. Аграрна наука та освіта Поділля : матеріали Міжнародна науково-практична конференції.: Кам'янець–Подільський, 2017. С. 146–148.

99. Руденко О. П., Віщур О. І. Сезонна динаміка Т- і В-лімфоцитів крові корокових риб. Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини : матер. XVI Всеукраїнської науково-практична конференції. Львів, 2017. С. 127.

100. Симоненков А. П. Аргументы в пользу уточнения классификации гипоксических состояний БЭБиМ. 1999. № 2. С. 142–151.

101. Сільвестров В. В. Методические указания по определению уровня естественной резистентности и оценке иммунного статуса рыб. 1999. № 13-4-2. 1795 с.

102. Соколов А. В. Соколов В. С., Фельдман Т. Б. Взаимодействие полностью транс-ретинола с бислойными липидными мембранами. *Биол. мембраны*. 2008. Т. 25, № 6. С. 499–507.

103. Тучапська А. Я., Фріштак О. М., Морміль Л. В. Динаміка показників крові молоді любінського лускатого коропа залежно від умов вирощування *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького*. 2013. Т. 15, № 3(3). С. 218–22.

104. Тучапський Я. В. Біолого-господарча оцінка коропа любінського типу Української рамчастої породи УААН Інститут рибного господарства : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд наук канд. с.–г. наук: спец. 06.02.03 Київ, 2003.

105. Федяєв В. Є. Ставкове рибництво країни : Минуле, сьогодення, майбутнє. Рибне господарство. 2003, № 1. С 38–39.

106. Шаповал Г. С., Громова Г. С. Механизмы антиоксидантной защиты организма при действии активних форм кислорода *Український біохімічний журнал*. 2003. Т. 75, № 2. С. 5–13.

107. Шерман І. М. Рибництво / І. М. Шерман, І. П. Краснодюк, Ю. В. Пилипенко. К.: Урожай, 1992. 192 с.

108. Янович Н. Є., Янович Д. О. Роль мікроелементів у життєдіяльності ставкових риб. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С. З. Гжицького*. 2014. Т.16, № 2(59). 347 с.
109. A biochemical study of mucus lysozyme, proteins and plasma thyroxine of Atlantic salmon (*Salmo salar*) during smoltification / M. S. Fagan et al. *Aquaculture*. 2003. Vol. 222, No. 1. P. 287–300.
110. Andreyev A. Yu., Kushnareva Yu. E., Starkov A. A. Mitochondrial metabolism of reactive species. *Biochemei*. 2005. Vol. 70 No. 2. P. 200–214.
111. An optimum level of vitamin A supplements for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus L.*) juveniles / Moren M. I. et al. *Aquaculture*. 2004. Vol. 235. P. 587–599.
112. Annunziato F., Romagnani S. Heterogeneity of human effector CD4⁺ T cells. *Arthritis Research and Therapy*. 2009. Vol. 11, No. 6. 257 pp.
113. Ahmad I, Pacheco M., Santos M. A. Enzymatic and non-enzymatic antioxidants as an adaptation to phago-cyte-induced damage in *Anguilla anguilla L.* following insitu harbour water exposure. *Ecotoxicol. Environ. Safety*. 2004. Vol. 57. 290 pp.
114. Akinrotimi O. A., Bekibele D. O., Orokotan O. O. Selected haematological values of African catfish (*Clarias gariepinus*) raised in water recirculating system. *International J Recirculating Aquaculture*. 2011a. Vol. 12. P. 1–12.
115. Akinrotimi O. A., Orlu E. E., Gabriel U. U. Haematological response of *Tilapia guineensis* treated with industrial effluents. *Applied Ecology and Environmental sciences*. 2013. No. 1. P. 10–13.
116. Akira S., Uematsu S. & Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*. 2006. Vol. 124, No. 4. P. 783–806.
117. Alvarez-Pellitero P. Fish immunity and parasite infections: From innate immunity to immunoprophylactic prospects. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2008 Vol. 126, No. 3, P. 171–198.
118. Anderson. J., Young L. Fat-Soluble Vitamins. *Food and Nutrition Series*. Colorado State University. 2008. No. 9. P. 315.

F., Romagnani S. Heterogeneity of human effector CD4⁺ T cells. *Arthritis Research and Therapy*. 2009. Vol. 11. No. 6. 257 pp.

120. Aoki T., Takano T., Santos M. D., Kondo H., & Hirono I. Molecular innate immunity in teleost fish: review and future perspectives. In *Fisheries for Global Welfare* a

n 121. Aranow C. Vitamin D and the Immune System. *J. Investig. Med.* 2011. Vol. 69, No. 6. P. 881–886.

122. Arkoosh M. R., Kaattari S. L. Development of immunological memory in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). An immunochemical and cellular analysis of the B cell response. *Dev Comp Immunol* 1991. Vol. 15. P. 279–293.

v 123 Assessment of hematological parameter range values using an automatic method in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) / F Filiciotto et al. *Natura Rerum*. 2012. Vol. 1. P. 29–3.

o 124. Baraboi V. A. Antioxidant and biological activity of melatonin. *Ukrainian Biochemie. J.* 2000. Vol. 72, No. 3. P. 5–11.

m 126. Bello O. S., Olaifa F. E., Emikpe B. O. 2014. Haematological and blood biochemical changes in African catfish, *Clarias gariepinus* fed walnut (*Tetracarpidium monophorum* Mull. Arg.) Leaf and onion (*Allium cepa* Linn) bulb supplemented diets. *American Journal of Experimental Agriculture*. Vol. 4, No. 12. P. 1593–1603.

. 127. Boyum F. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand. Journal. Clin. Lab. Invest.* 1968. Vol. 21., No 97. P. 77–79.

M 128. Cameron J. N. The influence of environmental variables on the haematology of Pinfish, *Lagodon rhomboids* and mullet *Mugil cephalus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 2010. No. 132. P. 175–192.

o 129. Carlson E., Zelikoff J. T. The immune system of fish : a target organ of toxicity. *The Toxicology of Fishes*. Taylor and Francis; Washington DC: 2008. P. 489– 530.

a 130. Chan V. T., Wolf G. The role of vitamin A in the glycosylation reactions of glycoprotein synthesis in an „in vitro” system. *Biochemie Journal*. 1987. Vol. 247, No. 1. P. 53–62.

B

o

131. Cheng S. Y., Leonard J. L., Davis P. J. Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocrine Reviews*. 2010. Vol. 31. P 139–170.

132. Vpr-mediated incorporation of UNG2 into HIV-1 particles is required to modulate the virus mutation rate and for replication in macrophages / Chen et al., *JBC Papers in Press* 2004. Published on April 19.

133. Danchuk V. V. Peroxidation in farm animals and poultry. *Kamenets ABC*. 2006. 192 p.

134. Das N. P. Effect of vitamin A and its analogs on nonenzymatic lipid peroxidation in rat brain mitochondrion. *Journal of Neurochemistry*. 1989. Vol. 52. P. 585–588.

135. Davis P. J., Davis F. B. Nongenomic actions of thyroid hormones. *Thyroid*. 1996. Vol. 6. P. 497–504.

136. Debier^oC., Larondelle Y. Vitamins A and E : metabolism, roles and transfer to offspring. *British Journal of Nutrition*. 2005. Vol. 93. P. 153–174.

137. Detection of antimicrobial peptides related to piscidin 4 in important aquacultured fish / J. Corrales et al. *Developmental & Comparative Immunology*. 2010. No. 34. P. 331–43.

138. Development of Monocytes, Macrophages, and Dendritic Cells / F. Geissmann et al. *Science*. 2010. No. 327. P 656–661.

139. De Paula F. J., Rosen C. J., Vitamin D safety and requirements. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2012 Vol. 523, No.1. P. 64–72.

140. Dietary selenium in adjuvant therapy of viral and bacterial infections / H. Steinbrenner et al. *Advances in Nutrition*. 2015. Vol. 6, No. 1. P. 73–82.

141. Dirican S. and Çilek S. Condition factors of seven Cyprinid fish species from Çamlığöze dam lake on central Anatolia. *African Journal of Agricultural Research*. Turkey. 2012. Vol. 7, No. 31, P. 4460–4464.

142. Duester G. Retinoic acid synthesis and signaling during early organogenesis. *Cell*. 2008. Vol. 134. P. 921–931.

143. Effects of cortisol and thyroid hormone on peripheral outer ring deiodination and osmoregulatory parameters in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*) / F. J. Arjona, et al. *Journal of Endocrinology*. 2011. Vol .208. P. 323– 330.

144. Effects of dietary selenium, vitamin E, and their combination on growth, serum metabolites, and antioxidant defense system in skeletal muscle of broilers under heat stress / S. Ghazi Harsini et al. *Biological Trace Element Research*. 2012. Vol. 148. No. 3. P. 322–30.

145. Eo J., Lee K. J. Effect of dietary ascorbic acid on growth and non-specific immune responses of tiger puffer, *Takifugu rubripes*. *Fish Shellfish Immunol*. 2008. Vol. 25, No. 5. P. 611–6.

146. Fagbenro O. A., Adeparusi E. O., Jimoh W. A. Haematological profile of blood of African catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) fed sunflower and sesame meal based diets. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 2013. Vol. 8. P. 80–86.

147. FAO *The State of World Fisheries and Aquaculture*. 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. Italy. 200 pp.

148. Fournier-Betz V. Immunocytochemical detection of Ig-positive cells in blood, lymphoid organs and the gut associated lymphoid tissue of the turbot (*Scophthalmus maximus*) / V. Fournier-Betz, C. Quentel, F. Lamour, A. LeVen. *Fish Shellfish Immunol* 2000. Vol. 10. No. 187. 202 pp.

150. FNB: Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. 2011. Available at URL. http://books.nap.edu/openbook.php?record_id=13050

151. Food consumption and digestive enzyme activity of *Clarias batrachus* exposed to various temperatures / Ahmad T. S. et al. *Aquaculture Nutrition*. 2014. Vol. 20. P. 265–272

152. Freake H. C., Shwartz H. L., Oppenheimer J. H. The regulation of lipogenesis by thyroid hormone and contribution to thermogenesis. *Endocrinology*. 1989. Vol. 125. P. 2865–2868.

153. Froese R, Pauly D. *FishBase* 2016. World Wide Web electronic publication: www.fishbase.org, version 01/2016.

154. Fuge R. Iodine deficiency : an ancient problem in modern world 2007. *AMBIO: A Journal of the Human Environment* Vol. 36. No. 1. P. 70–72.
155. Functional alterations associated with “winter syndrome” in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) / M. A. Gallardo et al. *Aquaculture*. 2003. No.223. P.15–27.
156. Genaro M. Temperature effect of fish tank facilities inside green house. *International Journal of the Physical Science*. 2011. No 6 (5). P. 1039–1040.
157. *General and Comparative Endocrinology Journal*. 2011. Vol. 172, No. 2. P. 198–210.
158. Grymula E. The influence of 3,3',5-triiodo-l-thyronine on human haematopoiesis / Grymula and al. 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.2007.00435.x>
159. Guernsey D. L., Edelman I. S. Regulation of thyroid thermogenesis by thyroid hormones. In: *Molecular Basis of Thyroid hormone Action*, eds. Oppenheimer J. H., Samuels H. H., New-York. Academic Press. 1983. P. 293–312.
160. Gatto D., Drink R. The germinal center reaction. 2010. *J Allergy Clin Immunol*. 126. 898–907.
161. Guderley H. Going with the flow in the fast lane : contrasting mitochondrial responses to thermal change . *Journal of Experimental Biology*. 2002. Vol. 205, P. 2237– 2249.
162. Habibian M., Ghazi S., Moeini M. Effects of dietary selenium and vitamin E on immune response and biological blood parameters of broilers reared under thermoneutral or heat stress conditions. *Int. J. Biometeorol*. 2014. Vol. 58, P. 741–752.
163. Haematological responses of *Tilapia guineensis* to acute stress / Akinrotimi O. A. et al. *International J National and Applied Sci*. 2009. No.5. P. 338– 343
164. Halver J. E. The Vitamins. In: Halver J. E, Hardy J. V.(Eds), *Fish Nutrition*, 3rd ed., *Academic Press Inc*, San Diego, CA, USA, 2002 P. 62–141.
165. Hardeland R., Panti-Perumal S. R. Melatonin. *FEBS J*. 2006. P. 273.

166. Hermes-Lima M., Zenteno-Savin T. Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. *Comp. Biochem. Physiol. C.* 2002. Vol. 133. P. 537–556.
167. Hermes-Lima M., Storey J. M., Storey K. B. Antioxidant defenses and animal adaptation to oxygen availability during environmental stress. In: Storey K. B., Storey J. M. (eds.), *Cell and Molecular Responses to Stress*. 2 Elsevier. 2001. Amsterdam, P. 263–287.
168. Holik M. F. Vitamin D₂ is as effective as vitamin D₃ in maintaining circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D /M. F. Holick et al. *Clin. Nutr. J. Med.* 2007. Vol. 357. P. 266–281.
169. Hollick M. F., Chen T. C. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2008. Vol. 87, No. 4.
170. Hansen J. D., Zapata A. G. Lymphocyte development in fish and amphibians. *Immunol Rev.* 1998. Vol. 166, P. 199–220.
171. Hodkinson at al. Preliminary evidence of immune function modulation by thyroid hormones in healthy men and women aged 55–70 years 2009. Vol. 202 P. 55– 63.
172. Hirokawa K., Utsuyama M., Kobayashi S. Hypothalamic control of development and aging of the thymus. *Mech Aging Dev.* 1998. Vol. 100. P. 177.
173. Holland J. W., Pottinger T. G., Secombes C. J. Recombinant interleukin-1 beta activates the hypothalamic-pituitary-interrenal axis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J Endocrinol* 2002. No. 175 261–267.
174. Hyperoxia results in transient oxidative stress and an adaptive response by antioxidant enzymes in goldfish tissues / V. I. Lushchak, T. V. Bagnyukova, V. V. Husak. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2005. Vol. 37, № 8. P. 1670–1680.
175. Hypoxia and recovery perturb free radical processes and antioxidant potential in common carp (*Cyprinus carpio*) tissues / V. I. Lushchak et al. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2005. V. 37, № 6. P. 1319–1330.
176. Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources / J. Ekasari et al. *Fish & Shellfish Immunology*. 2014. No. 41, P. 332–339.

177. Impact of different environmental factors on the circulating immunoglobulin (IgM) levels in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* / M. Dominguez. et al. *Aquaculture*. 2004. Vol. 241, No.1–4. P. 491–500.

178. Impact of vitamin D on immune function : lessons learned from genome-wide analysis / R. F. Chun et al. *Frontierd Physiologi*. 2014. No. 5. P. 151.

179. Isuev A. R. Peroxidation of lipids and antioxidant activity in the fingerlings of Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii* as an index of oil contamination in a water environment / A. R. Isuev, M. M. Gabibov, S. A. Guseinova. *J. Ichthyol*. 2000. V. 40. P. 471–478.

180. Jamalzadeh H. R, Ghomi M. R. Hematological parameters of Caspian salmon *Salmo trutta caspius* associated with age and season. *Marine Fresh Behavior and Physiology*. 2009. No. 42. P. 81–87.

181. Jeffery L. E. Availability of 25-hydroxyvitamin D₃ to antigen presenting cells controls the balance between regulatory and inflammatory T cell responses. Jeffery L. E. et al., 2011. *J Immunol*. 2012. No. 189(11) P. 5155–5164.

182. Jia X., Zhang L. X. Low levels of cadmium exposure induce DNA damage and oxidative stress in the liver of Oujiang colored common carp *Cyprinus carpio* var. color. *Fish Physiology. Biochem*. 2011. Vol. 37. P. 97–103.

183. Jondal M., Holm G., Wiqzell H. Surface markers on human T and B lymphocytes. I. A large population of lymphocytes forming nonimmune rosettes with sheep red blood cells *J. Exp. Med*. 1972. Vol. 136. No. 2. P. 207–21.

184. Joshi P K, Bose M and Harish D. Changes in certain haematological parameters in a siluroid catfish *Clarias batrachus* (Linn) exposed to cadmium chloride. *Pollution Resources* 2002a. No. 21 (2). P. 129–131.

185. Joyner-Matos J., Chapman L. Persisting in papyrus: Size, oxidative stress, and fitness in freshwater organisms adapted to sustained hypoxia [Electronic resource] / J. Joyner-Matos L. Chapman. *Comp. Biochem. Physiol. A*. 2013. Access mode: [dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.03.032](https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.03.032).

186. Kamen D. L., Tangpricha V. Vitamin D and molecular actions on the immune system: modulation of innate and autoimmunity *J.Mol. Med. Berl.* 2010. Vol. 88, No. 5 P. 441–450.
187. Karapetkova M., Jivkov M. Fishes in Bulgaria. Gea-Libris, Sofia. 2006.
188. Kiron V. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care *Animal Feed Science and Technology* 2012. Vol. 173, P. 111–133.
189. Kohrle J. The deiodinase family – selenoenzymes regulating thyroid hormone availability and action. *Cell. Mol. Life. Sci.* 2000. In press.
190. Köhrle J. The selenoenzyme family of deiodinase isoenzymes controls local thyroid hormone availability *Rev. Endocrine Metabol. Dis.* 2000. Vol. 1. P. 48–59.
191. Köhrle J. Local activation inactivation of thyroid hormones the deiodinase family. *Mol. Cell. Endocrinol.* 1999. Vol. 151. P. 103–119.
192. Kono N. Intracellular transport of fat-soluble vitamins A and E. *Traffic.* 2015. Vol. 16, No 1. P. 19–34.
193. Klein N., Dommett R. M., Turner M. W. Mannose-binding lectin in innate immunity: past, present and future. 2006 No 68(3). P. 193–209.
194. Kum C., Sekkin S. The immune system drugs in fish: Immune function, immunoassay, drugs, recent advances in fish farms. Faruk Aral (Ed.). 2011. Retrieved from <http://www.intechopen.com/books/recent-advances-in-fish-farms/the-immune-system-drugs-in-fish-immune-function-immunoassay-drugs>.
195. Laing K. J. Cloning and expression analysis of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* tumour necrosis factor- α . *Eur J. Biochem.* 2001. Laing K. J. et al. No 268. P. 1315–1322.
196. Langston A. L., The effect of temperature on non species defense parameters of three strains of juvenile Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* L. / Langston A. L. et al. *Fish & Shellfish Immunology.* 2002 12, P. 61–76.
197. Lin M. F. and Shiau S. Y. Dietary vitamin E requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus* at two lipid levels, and their effects on immune responses. *Aquaculture* No 248. 235–244.

198. Litman G. W, Rast J. P., Fugmann S. D. The origins of vertebrate adaptive immunity, *Nat Rev Immunol.* 2010. Vol. 10. P. 543–53.
199. Linder M. C. Nutritional and metabolism of the trace elements. In *Nutrition Biochemistry and Metabolism with Clinical Application* ed. Ed. M. C. Linder. New York: Elsevier. 1991. P. 215–276.
200. Lipolytic and ketogenic fluxes in human hyperthyroidism / M. Beylot et al. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1991. Vol. 73. P. 42–49.
- 201 Lushchak V. I., Bagnyukova T. V., Lushchak O. V. Hypoxia and recovery perturb free radical processes and antioxidant potential in common carp (*Cyprinus carpio*) tissues. *Int. J. Bioch. Cell.* 2005. Vol. 37(6). P. 1319–1330.
202. Lushchak V. I., Lushchak L. P., Mota A. A. and Hermes-Lima M. Oxidative stress and antioxidant defenses in goldfish *Carassius auratus* during anoxia and reoxygenation. *Am. J. Physiol.* 2001. No. 280. P. 100–107.
203. Lushchak V. I., Bagnyukova T. V. Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues. Indices of oxidative stress *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 2006. Vol. 143. No. 1. P. 30–35.
204. Magnadottir B. Comparison of immunoglobulin (IgM) from four fish species. *Icelandic Agricultural Sciences.* 2010. Vol 12. P. 47–59.
205. Magnadottir B. Innate immunity of fish (overview) *Fish Shellfish Immunol.* 2006. Vol. 20. P. 137–151.
206. Magor B. G., Magor K. E. Evolution of effectors and receptors of innate immunity. 2001. *Dev Comp Immunol.* No. 25(8-9) P. 651–82.
207. Martinez-Alvarez R. M., Morales A. E., Sanz A. Antioxidant defenses in fish : biotic and abiotic factors. *Rev. Fish Biol. Fish.* 2005. Vol. 15, No. 1. P. 75–88.
208. Martinez-Alvarez R. M. Physiological changes of sturgeon *Acipenser naccarii* caused by increasing environmental salinity. *J. Exp. Biol.* 2002. Vol. 205. P. 3699–3706.
209. Matsunuma A., Vitamin D: Volume 1: Biochemistry, Physiology and Diagnostics. *J. Wesley Pike, Roger Bouillon* 2007.
210. McLaren D. S., Kraemer K. Interaction of vitamin A and other micronutrients *World Rev. Nutr. Diet.* 2012. Vol. 103. P. 101–105.

211. Meredith A. J., McManus B. M., Vitamin D in heart failure. *J Card Fail.* 2013. No. 19(10) P. 692–711.
212. Meydani S. N. Assessment of the safety of supplementation with different amounts of vitamin E in healthy older adults / S. N. Meydani at al. *Am. J.Clin. Nutr.* 1998. No. 68. P. 311–318.
213. Micronutrients and innate immunity / K. Erickson, et al. *The Journal of Infectious Diseases.* 2000. Vol. 182 (1 Suppl.). P. 5–10.
214. Moin V. M. Simple and specific method for determining the activity of glutathione peroxidase in eritrotsitah. *Laboratory work* 1986. No. 12, P. 724–727.
215. Multiple acute temperature stress affects leukocyte populations and antibody response in common carp, (*Cyprinus carpio L.*). / M. Y. Engelsma. et al. *Fish and Shellfish Immunology.* 2003 No. 15. P. 397–410.
216. Nagasawa T. Phagocytosis by thrombocytes is a conserved innate immune mechanism in lower vertebrates / T. Nagasawa at al. *Frontiers in Immunology* 2014. No. 5. P. 445.
217. Nehemia A. Length-Weight relationship and condition factor of tilapia species grown in marine and fresh water ponds / A. Nehemia at al. *Agriculture and Biology Journal of Nort America* 2012. No. 3(3) P. 117–124.
218. Non-native fishes and climate change : predicting species responses to warming temperatures in a temperate region / J. R. Britton et al. *Freshwater Biology.* 2010. Vol. 55. P. 1130–1141.
219. Norman P. E., Powell J. T., Vitamin D and cardiovascular disease. 2014. Vol. 17, No. 114(2) P. 379–93.
220. Olsen R. E. The influence of temperature, dietary polyunsaturated fatty acids, α -tocopherol and spermineon fatty acid composition and indices of oxidative stress in juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus (L.)* *Biochem. Fish Physiol.* 1999. Vol. 20. P. 13–29.
221. Olson J. A. Vitamin A and carotenoids as antioxidants in a physiological context . *J. Nutr. Sci. Vit.* 1993. Vol. 39. P. 57–65.

222. Palm N. W., Medzhitov R. Pattern recognition receptors and control of adaptive immunity, *Immunol Rev.* 2009. No. 227. P. 221–33.
223. Palmer M. T. MiD49 and MiD51 new components of the mitochondrial fission machinery / M. T. Palmer et al., *EMBO Rep.* 2011. No. 12(6) P. 565–73.
224. Pettifor J. M. Dietary calcium deficiency. In: FH Florieux ed. *Rickets. New York: Raven Press* 1991. P. 123–144.
225. Parra D., Takizawa F., Sunyer J. O. Evolution of B cell immunity. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 2013, Vol. 1. P. 65–97.
226. Pascoli F. Seasonal effects on hematological and innate immune parameters in sea bass *Dicentrarchus labrax* / F. Pascoli et al., *Fish and Shellfish Immunology.* 2011. Vol. 31, No. 6, P. 1081–1087.
227. Peter M. C. The role of thyroid hormones in stress response of fish. *Gen Comp Endocrinol.* 2011. No. 172(2) P. 198–210.
228. Petriv V. B. Koncentracija iodu v skeletnyh miazach i tovsolobyka za riznym vmistom iodu u vodu stavu. Naukovo-technichniy biuleten Instytutu biologii tvaryn DNDKI vetpreparativ ta kormovyh dobavok. 2006. Vol. 7, 1, 2, P. 131–134.
229. Plum Lori A., Hector F. DeLuca The functional Metabolism and Molecular Biology of Vitamin D. Action Vitamin D: Physiology. Molecular Biology and Clinical Applications; ed. Michael F. Holick. Humana Press, 2010. Part 1. P. 61–97.
230. Pombout J. H. Teleost intestinal immunology / J. H. Pombout *Fish Shellfish Immunol.* 2010. Vol. 31. P. 616–26.
231. Pakkala S. Vitamin D₃ analogs: effects on leukemic clonal growth differentiation and on serum calcium levels / S. Pakkala et al. *Leuk Res.* 1995 Vol. 19. P. 65–70.
232. Prietl B. Vitamin D and immune function. *Nutrients.* 2013. Vol. 5, No. 7. P. 2502–2521.
233. Pereira-Santos M. Obesity and vitamin D deficiency : a systematic review and metaanalysis / M. Pereira-Santos et al. *Obes Rev* 2015. Vol. 16 P. 341.
234. Pronina G. I. On the possibilities of enhancing the immune stability of aquatic organisms in aquaculture. *News of OGAU.* 2014. Vol. 3. P. 180–183.

235. PTK (ed) Fish Diseases and Disorders, second edition. CAB International, Wellingford Begossi et al. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 2016. Vol. 12 P. 20.

236. Puangkaew J. Non-specific immune response of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*, Walbaum) in relation to different status of vitamin E and highly unsaturated fatty acids / J. Puangkaew et al. *Fish Shellfish Immun.* 2004. Vol. 16. P. 25–39.

237. Press C. M., Evensen O. The morphology of the immune system in teleost fish, *Fish Shellfish Immunol*, 1999. Vol. 9 309–18.

238. Qiao S. F. T.–J. Lu J.–B. Sun, F. Li. Alterations of intestinal immune function and regulatory effects of L–arginine in experimental severe acute pancreatitis rats. *World Gastroenterol.* 2005. Vol. 11. P. 6216–6218.

239. Rauta P. R., Nayak B., Da S. Immune system and immune responses in fish and their role in comparative immunity study: a model for higher organisms. *Immunology Letters*. 2012. Vol. 148, No. 1, P. 23–33.

240. Rauthan G, Rauthan J. V. Grover S. P. Seasonal variations in total leucocytes count in some hill stream fishes in Doon valley. *J.Exp.Zool.India*. 2006. No. 9(1). P. 255– 259.

241. Razzaque M. S., Lanske B. Hypervitaminosis D and premature aging: lessons learned from Fgf23 and Klotho mutant mice. 2006. *Trends Mol Med*. 2006 No.12(7). P. 298–305.

242. Rosenstreich S. J., Rich C., Volwiler W. Deposition in and release of vitamin D₃ from body fat : evidence for a storage site in the rat. *J Clin Invest* 1971. 50. P. 679–87.

243. Rederstorff M., Krol A., Lescure A. Understanding the importance of selenium and selenoproteins in muscle function / *Cell Mol. Life Sci*. 2006. Vol. 63, No. 1. P. 52– 59.

244. Researches on the activity of oxidoreductases from tissues harvested in different stages of development at *Cyprinus carpio* / Arteni O. M. et al. *Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară*. 2010. T. 11. P. 83–86.

245. Rederstorff M., Krol A., Lescure A. Understanding the importance of selenium and selenoproteins in muscle function / *Cell Mol. Life Sci.* 2006. Vol. 63, No. 1. P. 52– 59.
246. Ribarova F. Food and Vitamins. 1st Ed. Infopress, Sofia. 2007.
247. Rigby W. F., Waugh M. G. Decreased accessory cell function and costimulatory activity by 1,25-dihydroxyvitamin D3-treated monocytes. *Arthritis Rheum.* 1992 No. 35(1). P. 110–9.
248. Role of redox metabolism for adaptation of aquatic animals to drastic changes in oxygen availability / A. F. Welker, D. C. Moreira, E. G. Campos et al. *Comp. Biochem. Physiol. A, Mol. Integr. Physiol.* 2013. Vol. 165 (4). P. 384–404.
249. Rombout J. H. Phylogeny and ontogeny of fish leucocytes. *Fish Shellfish Immunol.* 2005. No. 19(5). P. 441–55.
250. Ronisz D. D., Larsson G. J., Förlin L. Seasonal variations in the activities of selected hepatic biotransformation and antioxidant enzymes in eelpout (*Zoarces viviparus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 1999. Vol. 124. P. 271–279.
251. Rubio-Godog M. Teleost fish immunology: Review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 2010 Vol. 1(1). P. 47 –57.
252. Ryo S. Common carp have two subclasses of bonyfish specific antibody IgZ showing differential expression in response to infection / S. Ryo et al. *Developmental and Comparative Immunology* 2010. Vol. 34. P. 1183–119.
253. Saravanan M., Prabhu Kumar K., Ramesh M. Haematological and biochemical responses of freshwater teleost fish *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes) during acute and chronic sublethal exposure to lindane *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2011. Vol. 100, No. 3, P. 206–211.
254. Salinas I., Zhang Y. A., Sunyer J. O. Mucosal immunoglobulins and B cells of teleost fish. *Developmental and Comparative Immunology*, 2011. No. 35(12), P. 1346–1365.
255. Saurabh S., Sahoo T. K. Lysozyme : An important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research* 2008. No. 39(3). P. 223–239.

256. Martines-Alvarez R. M. Antioxidant defenses in fish : biotic and abiotic factors. *Rev. Fish Biol. Fish.* 2005. Vol. 15, No.1. P. 75–88.
257. Seasonal variation and the immune response : A fish perspective / Bowden T. J. et al. *Fish Shellfish Immunol.* 2007. Vol. 22. P. 695–706.
258. Secombes C. J. Cytokines and innate immunity of fish / C. J Secombes et al. *Dev Comp Immunol* 2001. Vol. 25 P. 713–723.
259. Seyedeh A. S., Hossein K., Shayan G. Effects of vitamins E and Riboflavin (B2) and combinations of them on the hematological parameters of common carp, *Cyprinus carpio L.*, *Arch. Pol. Fish.* 2015. Vol. 23. P. 107–111.
260. Skomal G. B., Mandelman J. W. The physiological response to anthropogenic stressors in marine elasmobranch fishes: a review with a focus on the secondary response, *Comparative Biochemistry and Physiology* 2012. Vol. 162, No. 2. P. 146–155.
261. Shah A. W. Impact of fish haematology of Anchar lake, Kashmir. Pakistan *Journal of Nutrition.* 2009. No. 8(01) P. 42–45.
262. Stephan G., Guillaume J., Lamour F. Lipid peroxidation in turbot (*Scophthalmus maximus*) tissue : effect of dietary vitamin E and dietary n-6 or n-3 polyunsaturated fatty acids. *Aquaculture.* 1995. No.130. P. 251–268.
263. Subramanian S., MacKinnon N. W, Ross A. Comparative study on immune parameters in the epidermal mucus of various fish species *Comp. Biochem. Physiol. B* 2007. No.148. P. 256–263.
264. Takizawa F. The expression of CD8 α discriminates distinct T cell subsets in teleost fish, *Dev Comp Immunol.* 2011. No. 35. P. 752–63.
265. Tavares-Dias M., Moraes F. R. Hematologia de peixes teleósteos. Ribeirão Preto: San Paulo. 2004.144 pp.
266. Tavares-Dias M. Moraes F. R.. Leukocyte and thrombocyte reference values for channel catfish (*Ictalurus punctatus* Raf.), with an assessment of morphological, cytochemical, and ultrastructural features. *Veterinary Clinical Pathology*, 2007. No. 36. P. 49–54.
267. T-cell subsets and T cell-mediated immunity / F. Broere et al. *In Principles of immunopharmacology.* 2011. P. 15–26.

268. T cell diversity and TcR repertoires in teleost fish / R. Castro et al. *Fish Shellfish Immunol*, 2011. Vol. 31. P. 644–54.

269. Terrón M. P. Phagocytosis of *Candida albicans* and superoxide anion levels in ring dove (*Streptopelia risoria*) heterophils: Effect of melatonin. / Terrón M. P. et al. *J. Neuroendocrinol.* 2003. Vol. 15. P. 1111–1115.

270. The teleost head kidney: Integrating thyroid and immune signalling / Edwin J. W. et al. *Developmental & Comparative Immunology* Vol. 66, P. 73–83.

271. The effect of vitamin D supplementation on peripheral regulatory T cells and β cell function in healthy humans : a randomized controlled trial / Bock G. et al. *Diabetes / Metabolism Research and Reviews journal* 2011. Vol. 27, No. 8. P. 942–5.

272. Tort L. Rotllant J., Rovira L. Immunological suppression in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) of the North-West Mediterranean at low temperatures. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology.* 1998 No. 120. P. 175–179.

273. Tiehui W. The innate and adaptive immunesystem of fish Chapt April 2012 University of Aberdeen.

274. Trace minerals in fish nutrition / T. Watanabe et al. *Department of Aquatic Biosciences*, Tokyo Unioersity of Fisheries. Tokyo 108, Japan Aquaculture 1997 No. 151. P. 185–207.

275. Tsap M. M., Rivis J. F. Nonetherified content of fatty acids in the liver by feeding carp and oils. *Fisheries science fusas Ukraine.* 2008, No. 2. P. 61–65.

276. Valero Y. Seasonal variations of the humoral immune parameters of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) / Y. Valero et al. *Fish and Shellfish Immunology* 2014. No. 39, P. 185–187.

277. Van Muiswinkel Willem B, Brenda Vervoorn-Van Der Wal B The immune system of fish. In: *CAB International* 2006. Vol. 1.

278. Vasta G. R. Structural and functional diversity of the lectin repertoire in teleost fish: relevance to innate and adaptive immunity / G. R Vasta . et al. *Developmental and Comparative Immunology*, 2011. Vol. 35, No. 12, P. 1388–1399.

279. Verburg-van Kemenade Lidy B M. Neuroendocrine-immune interactions in teleost fishet / Verburg-van Kemenade Lidy B M. al., 2009 *Fish Neuroendocrinology*. Vol. 28. P. 333–365.

280. Vilizzi L. The common carp, *Cyprinus carpio*, in the Mediterranean region: origin, distribution, economic benefits, impacts and management. *Fish Manag. Ecol* 2012. Vol. 19. P. 93–110.

281. Wansbrough-Jones M. H. Familial HBsAg-positive hepatoma; treatment with orthotopic liver transplantation and specific immunoglobulin / Wansbrough-Jones M. H. et al. *Br Med J*. 1978. Vol. 1. P. 216.

282. White J. H. The innate immune response of finfish-a review of current knowledge. *Format: AbstractFish Shellfish Immunol*. 2007. No. 23(6). P. 1127–51.

283. Wilson J. M., Laurent P. Fish gill morphology: inside out. *J Exp Zool*. 2002 Vol. 293. P. 192–213.

284. Witeska M. Changes in the Common carp blood cell picture after acute exposure to cadmium. *Acta Zoologica Lituanica*. 2001. Vol. 11. No. 4. P. 366–371.

285. Xue Y. GPR1 encodes a putative G protein-coupled receptor that associates with the Gpa2p Galpha subunit and functions in a Ras-independent pathway / Y Xue et al. *EMBO J*. 1998. No. 17(7). P. 1996–2007.

286. Zaki M. S. Assesment of the hazardous effect of lead pollution on *Tilipia zilli*, including hematological, biochemical and immunological and immunological parameters. 2010. 82–87.

287. Zapata A. Ontogeny of the immune system of fish. / A. Zapata et al. *Fish and Shellfish Immunology* 2006. 20. 126–136.

288. Zhao L. L. Supplementation with selenium and vitamin E improves milk fat depression and fatty acid composition in dairy cows fed fat diet / L. L. Zhao et al. *Asian-Aust. J. Anim. Sci*. 2008. Vol. 21. P 838–844.

289. Zhou J. F. Genetic divergence between *Cyprinus carpio carpio* and *Cyprinus carpio haematopterus* as assessed by mitochondrial DNA analysis, with emphasis on origin of European domestic carp. *Genetica*. J. F Zhou. 2003. No. 119 P. 93–97.

290. Zittermann A. Vitamin D and disease prevention with special reference to cardiovascular disease. *Prog Biophys Mol Biol*. 2006. No. 92(1). P. 39–48.
291. Zittermann A. Effect of vitamin D on all-cause mortality in heart failure (EVITA): a 3-year randomized clinical trial with 4000 IU vitamin D daily. *Eur Heart J*. 2017. No. 38(29) P. 2279–2286.
292. Zhu J., Paul W. E. Heterogeneity and plasticity of T helper cells, *Cell Res*, 2010 Vol. 20. P. 4–12.
293. Vhu P., Aul W. E., Peripheral CD4⁺ T-cell differentiation regulated by networks of cytokines and transcription factors, *Immunol Rev*, 2010b No. 238, P. 247–62.
294. Zou J., Clark M. S., Secombes C. J. Characterisation, expression and promoter analysis of an interleukin 10 homologue in the puffer fish, *Fugu rubripes*, *Immunogenetics*, 2003 No. 55, P. 325–35.
295. Zou Y., Carrington A., Collet B. Identification and bioactivities of IFN- γ in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: the first Th1-type cytokine characterized functionally in fish, *J Immunol*, 2005. No. 175. P. 2484–94.
296. Zou J, Mercier C, Secombes C. Discovery of multiple beta-defensin like homologues in teleost fish. *Mol Immunol*, 2007. No. 44, P. 638–47.
297. Zou J, Bird S, Secombes C. J. Antiviral sensing in teleost fish. *Current Pharmaceutical Design*. 2010. Vol 16. P. 4185–93.
298. Zapata A. G., Amemiya C. T. Phylogeny of lower vertebrates and their immunological structures. *Curr. Top. Microbiol Immunol* 1999. No. 248. P. 67–107.
299. Zapata A. G, Chib A, Varas A. Cells and tissues of the immune system of fish. In Iwama G. and Nakanishi T. (eds.). The fish immune system. Organism, pathogen and environment. *Academic Press*. 1996 P. 1–62.
300. Zou J, Bird S, Truckle J. Identification and expression analysis of an IL-18 homologue and its alternatively spliced form in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *European Journal of Biochemistry*. 2004. No. 271. P. 1913–1923.
301. Zimmerman L. M., Vogel L. A. Phagocytic B cells in a reptile. *Biol. Lett*. 2010 Vol. 6. P. 270–273.

302. Zurbrigg R. E, Beamish F. W. Thy-1 immunoreactivity in the larval sea lamprey (*Petromyzon marinus* L.), a vertebrate without a definitive thymus. *Can J Zool Revue Canadienne de Zoologie* 1995. 73.

303. Zelikoff J. T. Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals. *Toxicology*. 1998. Vol. 129, No. 1. P. 63–71.

304. Zarkadis I. K., Mastellos D., Lambris J. D. Phylogenetic aspects of the complement system. *Dev. Comp. Immunol.* 2001. Vol. 25. P. 745–762.

305. Zapata A. G., Varas A., Torroba M. Seasonal variations in the immune system of lower vertebrates. *Immunol. Today*. 1992. Vol. 13. P.142–147.

306. Zhang L., Wang C. C. Inflammatory response of macrophages in infection. *Hepatobiliary Pancreat Dis. Int.* 2014. No. 13. P. 138–152.

307. Zimecki M. The lunar cycle: Effects on human and animal behavior and physiology. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2006. Vol. 60. P. 1–7.

308. Zhu L. Y., Nie L., Zhu G. Advances in research of fish immune-relevant genes: A comparative overview of innate and adaptive immunity in teleosts. *Dev. Comp. Immunol.* 2013. Vol. 39. P.39–62.

309. Yamamoto M., Takeda K., Current views of toll-like receptor signaling pathways. *Gastroenterol Res Pract*, 2010, P. 240–365.

310. Yano T., Nakao M., Isolation of a carp complement protein homologous to mammalian factor D, *Mol Immunol*, 1994. Vol. 31, P. 337.

311. Yap W. H., Yeoh E., Tay A. STAT4 is a target of the hematopoietic zinc-finger transcription factor Ikaros in T cells, *FEBS Lett*, 2005. No. 579, 4470.

312. Yasuike M. Evolution of duplicated IgH loci in Atlantic salmon / M. Yasuike et al. *Salmo salar*, *BMC Genomics*, 2010. Vol. 11. P. 486.

313. Yazawa R. Striking antigen recognition diversity in the Atlantic salmon T- cell receptor alpha/delta locus / R. Yazawa G. A. Cooper et al., *Dev Comp Immunol*, 2008 Vol. 32, P. 204.

314. Yazawa R. Functional adaptive diversity of the Atlantic salmon T-cell receptor gamma locus / Yazawa R. et al *Mol Immunol*, 2008. Vol. 45, P. 7–2150.

315. Yin Z. X, Wei H., Chen W. Y. Cloning, expression and antimicrobial activity of an antimicrobial peptide, epinecidin-1, from the orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, *Aquaculture*, 2006. Vol. 31, P. 204–11.
316. Yoder J., Litman G. W. The phylogenetic origins of natural killer receptors and recognition: relationships, possibilities, and realities, *Immunogenetics*. 2011. Vol. 63, P. 123–41.
317. Yoneyama M, Fujita T. Structural mechanism of RNA recognition by the RIG-I-like receptors, *Immunity*, 2008. No 29. P. 178–81.
318. Yoshida H, Nakaya M., Miyazaki Y. Interleukin 27: a double-edged sword for offense and defense, *J Leukoc Biol*, 2009.No 86, P. 1295–303.
319. Yi X., Ding H., Lu Y. Effects of Long-term Alachlor Exposure on Hepatic Antioxidant Defense and Detoxifying Enzyme Activities in Crucian Carp (*Carassius auratus*). *Chemosphere*. 2007. Vol.68, P. 1576–1515l.
320. Yider J. A. Investigating the morphology, function and genetics of cytotoxic cells in bony fish. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2004. Vol. 138., No. 3. P. 271–280.

ДОДАТКИ
ДОДАТОК А



(11) **124321**(19) **UA**(51) МПК (2018.01)
A01K 61/00
A23K 20/174 (2016.01)(21) Номер заявки: **u 2017 05536**(22) Дата подання заявки: **06.06.2017**(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну модель: **10.04.2018**(46) Дата публікації відомостей
про видачу патенту та
номер бюлетеня: **10.04.2018,**
Бюл. № 7(72) Винахідники:
Віщур Олег Іванович, UA,
Руденко Ольга Петрівна, UA,
Гутий Богдан
Володимирович, UA(73) Власник:
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН
НААН,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів-34,
79034, UA

(54) Назва корисної моделі:

СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ ІМУННОГО ПОТЕНЦІАЛУ ТА ПРОДУКТИВНОСТІ КОРОПОВИХ РИБ

(57) Формула корисної моделі:

Спосіб підвищення імунного потенціалу та продуктивності корокових риб, при якому використовують мікроелементи Йод, Цинк і Селен, який відрізняється тим, що додатково до комбікорму додають ветеринарний препарат "Тривіт" із розрахунку 2 см³ на 25 кг комбікорму.

ДОДАТКИ Б

**Результати хімічних досліджень води ставів №24(9,11) Львівської
дослідної станції, 2015р.**

Показники	Стави		Нормативні значення для рибництва
	I	II	
pH середовища	<u>7,11 – 8,84</u> 7,81	<u>7,23 – 8,35</u> 7,71	6,5 – 8,5
Перманган. окиснюв., мгО/л	<u>9,47 – 14,20</u> 12,22	<u>9,28 – 16,00</u> 13,09	15 допуск. до 25,0
Лужність, мг-екв/л	<u>2,05 – 3,67</u> 3,09	<u>2,50 – 3,28</u> 2,99	3,0 – 6,0
Гідрокарбонати, HCO ₃ ⁻ , мг/л	<u>148,4 – 227,00</u> 175,63	<u>141,00 – 218,30</u> 188,90	200 – 400
Нітрити, NO ₂ ⁻ , мгN/л	<u>0,00 – 0,001</u> 0,00	<u>0,00 – 0,002</u> 0,00	0,1
Амонійний азот, NH ₄ ⁺ , мг N/л	<u>0,03 – 1,15</u> 0,69	<u>0,04 – 1,24</u> 0,70	1
Нітратний азот, NO ₃ ⁻ , мг N/л	<u>0,00 – 0,43</u> 0,15	<u>0,00 – 0,53</u> 0,19	2
Мінеральний фосфор, PO ₄ ³⁻ , мгP/л	<u>0,03 – 0,23</u> 0,12	<u>0,03 – 0,27</u> 0,13	0,5
Залізо заг., Fe, мг/л	<u>0,15 – 0,3</u> 0,22	<u>0,15 – 0,31</u> 0,24	1,8
Твердість заг., мг-екв/л	<u>3,00 – 4,31</u> 3,50	<u>3,18 – 4,45</u> 3,91	3 – 7
Кальцій, Ca ²⁺ , мг/л	<u>54,08 – 68,10</u> 59,63	<u>50,70 – 68,41</u> 57,08	40 – 60
Магній, Mg ²⁺ , мг/л	<u>6,30 – 11,50</u> 8,36	<u>6,91 – 11,54</u> 8,96	до 30,0
Хлориди, Cl ⁻ , мг/л	<u>17,60 – 17,70</u> 17,67	<u>17,30 – 17,50</u> 17,37	50 – 70
Сульфати, SO ₄ ²⁻ , мг/л	<u>75,13 – 95,40</u> 84,84	<u>74,58 – 97,10</u> 85,53	50 – 70
Σ K ⁺ , Na ⁺ , мг/л	<u>31,70 – 43,80</u> 35,83	<u>30,70 – 45,30</u> 39,17	До 120
Мінералізація заг., мг/л	<u>325,10 – 467,00</u> 383,23	<u>335,40 – 467,00</u> 408,97	300 – 1000
Розчинений у воді кисень, мг/л	<u>4,80 – 5,40</u> 5,17	<u>4,00 – 6,10</u> 5,27	≥5

ДОДАТОК В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Директор
 Львівської дослідної
 станції ІРГ НААН

 Ковальчук О.М.
 « 18 » вересня 2016 р.

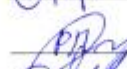
АКТ

**впровадження науково-дослідної роботи з вивчення впливу вітамінно-мінеральної
 добавки на організм дволіток коропа в умовах ставків**

Ми, що нижче підписались, комісія в складі завідувача лабораторії селекції Сярого Б.Г., завідувача лабораторії іхтіопатології Піруса Р.І., аспіранта Руденко О.П., аспіранта Фурманевич М.Б., склали даний акт про те, що з метою впровадження розробки наукової роботи 06 травня 2016 року у став Дослідного господарства ЛДС ІРГ НААН. № 24(19) площею 0,18 га було посаджено експериментальну групу риб, в яку входили: однорічки українського лускатого коропа любінського внутрішньопородного типу (♀ЛЛ Х ♂ЛЛ) з середньою масою – 35,5 г, однорічки українського рамчастого коропа любінського внутрішньопородного типу (♀ЛР Х ♂ЛР) з середньою масою – 13,4г і однорічки амурського сазана (♀АС Х ♂АС) з середньою масою 29,5 г. Щільність посадки кожної породної групи становила 500 екз/га, що становило загальну щільність посадки риб – 1500 екз/га. З 16 серпня 2015 року, протягом останніх 30 днів вегетації риbam у ставі № 24(19) годували комбікорм з вітамінно-мінеральною добавкою, в склад якої входили: «Тривіту» в кількості з розрахунку 2500 Ю вітаміну А, 3333 ІО вітаміну D₃, 1,7 мг вітаміну Е та мікроелементів Йоду, Цинку і Селену у вигляді відповідно йодистого калію – 5 мг/кг комбікорму, сульфату цинку – 40 мг/кг та селеніту натрію – 0,3 мг/кг в перерахунку на йон.

При облові ставу 16.09.2015 р. середній приріст за вегетацію лускатого коропа становив $515,00 \pm 5,54$ г, а середня маса становила – 550,5г., приріст рамчастого коропа – $511,10 \pm 10,11$ г, середня маса – 524,5г і приріст амурського сазана – $437,00 \pm 6,54$ г а середня маса – 466,70г. Рибопродуктивність кожної породи становила – 208,58кг/га, 199,33 кг/га і 185,81 кг/га, відповідно. Загальна рибопродуктивність ставу становила 593,710 кг/га у ставі №24(20), і 466,29 кг/га у ставі №24(19).

Підписи:

 Сярий Б.Г.
 Пірус Р.І.
 Руденко О.П.
 Фурманевич М.Б.

ДОДАТОК Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор

ДП ДГ Львівської дослідної
станції ІРГ НААН

 Петрів В.Б.
« 18 » вересня 2015 р.

АКТ

про здійснення виробничої перевірки науково-дослідної роботи з вивчення впливу вітамінно-мінеральної добавки на організм дволіток коропа в умовах ставків

Ми, що нижче підписались, комісія в складі завідувача лабораторії селекції Сярого Б.Г., завідувача лабораторії іхтіопатології Піруса Р.І., аспіранта Руденко О.П., аспіранта Фурманевич М.Б, склали даний акт про те, що з метою виконання виробничої перевірки наукової роботи 20 березня 2015 року у два стави Дослідного господарства ЛДС ІРГ НААН, № 24(20) площею 0,19 га, та № 24 (19) площею 0,16 га було посаджено експериментальну та контрольну групи риб, в які входили: однорічки українського помісного лускатого коропа (♀НЛ X ♂ЛЛ) з середньою масою – 31,7 г та щільністю 333 екз/га, однорічки помісного рамчастого коропа (♀НР X ♂ЛР) з середньою масою – 34,5г і однорічки амурського сазана (♀АС X ♂АС) з середньою масою 30,1 г. З 15 серпня 2015 року, протягом останніх 30 днів вегетації риbam у ставі № 24(19) згодовували комбікорм з вітамінно-мінеральною добавкою, в склад якої входили: «Тривіту» в кількості з розрахунку 2500 ІО вітаміну А, 3333 ІО вітаміну D₃, 1,7 мг вітаміну Е та мікроелементів Йоду, Цинку і Селену у вигляді відповідно йодистого калію – 5 мг/кг комбікорму, сульфату цинку – 40 мг/кг та селеніту натрію – 0,3 мг/кг в перерахунку на іон. У ставі № 24 (20) – вносили комбікорм без добавок.

При облові дослідних ставів 15.09.2015 р. у контрольному ставі №24 (20) середній приріст за вегетацію помісного лускатого коропа становив $548,2 \pm 2,12$ г, у дослідному ставі №24 (19) – $614,3 \pm 2,85$ г, що на 12 % вище від контрольних результатів, помісного рамчастого коропа – $645,0 \pm 5,10$ г, що перевищує значення контрольної групи на 13,76%, і амурського сазана – $450,00 \pm 4,30$ г, що перевищує контрольні результати на 6,76%. Рибопродуктивність ставів становила 414,44 кг/га у ставі №24(20), і 466,29 кг/га у ставі №24(19).

Підписи:



Сярий Б.Г.



Пірус Р.І.



Руденко О.П.



Фурманевич М.Б.

ДОДАТОК Д

Погоджено
Проректор з навчальної і виховної
роботи, академік НААН

Кваша С.М.

« 18 » березня 2018 р.

Затверджую
Перший проректор,
академік НААН

Ібатуллін І.І.

« 19 » березня 2018 р.

М.П.

А К Т

про впровадження/використання результатів
кандидатської дисертаційної роботи
у навчальний процес

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему: «Сезонні особливості та фактори регуляції імунного потенціалу та антиоксидантного захисту коропових риб», що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 03.00.04 «Біохімія» виконаної Руденко Ольгою Петрівною впроваджено у навчальну програму при викладанні дисциплін: «Іхтіологія загальна», «Іхтіологія спеціальна», «Гідробіологія», «Рибальство», «Біологічні основи рибного господарства». Результати досліджень щодо біохімічних та імунологічних процесів, які лежать в основі сезонних змін і породних особливостей метаболізму риб впроваджені на кафедрі гідробіології та іхтіології у підготовці фахівців ОС «Бакалавр» за напрямом «Гідробіологія та іхтіологія» із спеціальності «Водні біоресурси» у Національному університеті біоресурсів і природокористування України.

Директор НДІ технологій та якості
продукції тваринництва, к.с-г.н., доцент

Чумаченко І.П.

Декан факультету тваринництва та
водних біоресурсів, к.с-г.н., доцент

Кондратюк В.М.

Завідувач кафедри гідробіології
та іхтіології, к.б.н., доцент

Шевченко П.Г.

ДОДАТОК Е

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Декан біолого-технологічного факультету
Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С. З. Гжицького
кандидат сільськогосподарських наук, доцент
Лобойко Ю. В.
“ 5 ” 2018 р.



КАРТКА ЗВОРОТНЬОГО ЗВ'ЯЗКУ

1. Результати досліджень, отримані при виконанні дисертаційної роботи Руденко Ольги Петрівни на тему «Сезонні особливості та фактори регуляції імунного потенціалу та антиоксидантного захисту у коропових риб» мають важливе теоретичне значення щодо біохімічних та імунологічних процесів, які лежать в основі сезонних змін і породних особливостей метаболізму риб, використовуються в навчальному процесі кафедри «Водні біоресурси та аквакультура» при вивченні дисципліни «Іхтіології», «Гідрохімія», «Гідробіологія».
2. Результати досліджень за темою дисертаційної роботи Руденко Ольги Петрівни розглянуто і схвалено на засіданні кафедри «Водні біоресурси та аквакультура» біолого-технологічного факультету університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького та визнано, що результати цієї роботи є актуальними, мають науково-практичну та методичну цінність для спеціалістів напряму підготовки «Водні біоресурси та аквакультури».

Завідувач кафедри «Водні
біоресурси та аквакультура»
ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького
кандидат біологічних наук, доцент

В. Й. Божик

ДОДАТОК Є

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН

ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ВІТАМІННО-МІНЕРАЛЬНОЇ
ДОБАВКИ У РАЦІОНІ КОРОВОВИХ РИБ

НАУКОВО-ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Листо 2018 р.

ДОДАТОК Ж

УДК:577.16: 577.18: 591.545: 639.21: 597.556.15

Рекомендації розроблені співробітниками лабораторії імунології Інституту біології тварин НААН та співробітниками Львівської дослідної станції Інституту рибного господарства НААН — кандидатом сільськогосподарських наук Смолянським К. Б., молодшим науковим співробітником Масюк М. Б., молодшим науковим співробітником Руденко О. П., кандидатом біологічних наук Забитівським Ю. М., доктором ветеринарних наук, професором Віщуром О. І.

В основу рекомендацій покладено вітамінно-мінеральну добавку, що містить аскоробітинні вітаміни А, D₃, Е і мікроелементи Селен, Цинк та Йод, розроблену співробітниками лабораторії імунології. Подано коротку характеристику вказаних інгредієнтів вітамінно-мінеральної добавки та основні способи її застосування з метою підвищення репродуктивної функції самців коропа й імунного потенціалу коропових риб. Узагальнено результати наукових досліджень щодо ефективності застосування вітамінів та мікроелементів на організм коропа та впливу на його продуктивність.

Ефективність застосування вітамінно-мінеральної добавки у раціоні коропових риб: науково-практичні рекомендації / Смолянський К. Б., Масюк М. Б., Руденко О. П., Забитівський Ю. М., Віщур О. І. — Львів, 2018. — 19 с.

Рекомендації затверджені вченою радою Інституту біології тварин НААН, протокол № 9 від 16.12.2015 р.

Призначено для лікарів ветеринарної медицини, спеціалістів рибного господарства, наукових співробітників, викладачів і студентів ветеринарних та аграрних ВНЗ.

Рецензенти: д. вет. н. Юсаків Л. Л., к. с.-г. н. Цап М. М.

ДОДАТОК 3

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧКИ

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 корошових риб. *Ветеринарна біотехнологія*. Київ, 2016. Вип. 28. С. 241–246. *(Дисертантка провела аналіз та дослідження показників, що характеризують клітинну й гуморальну ланки неспецифічної резистентності корошових 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 корошових 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 корошових 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 корошових 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 / Смолянінов 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. P. 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).