



UDC 639.215.2.09:577.12.001.5

**State of antioxidant protection system in carp hepatopancreas affected by associative
Aeromonas Hydrophila infection with *Saprolegnia Sp.***

Kh. Ya. Solopova^{1*}, O. I. Vishchur², M. Z. Korylyak¹, I. Ye. Solovodzinska³

¹ Institute of Fisheries, Ukraine

² Institute of Animal Biology NAAS, Ukraine

³ Lviv National Agrarian University, Ukraine

Article info

Received 06.10.2020

Received in revised form

08.11.2020

Accepted

15.11.2020

¹ Institute of Fisheries, 135,
Obukhivska str, Kiev-164,
Ukraine, 03164;

² Institute of Animal Biology
NAAS, 38, V. Stus str., Lviv,
Ukraine, 79034;

³ Lviv National Agrarian
University, 1, V. Velykoho str.,
Dublyany, Zhovkva district, Lviv
region, Ukraine, 80381

*E-mail:

khrystyna.solopova@gmail.com

Solopova, Kh. Ya., Vishchur, O. I., Korylyak, M. Z., & Solovodzinska, I. Ye. (2020). State of antioxidant protection system in carp hepatopancreas affected by associative *Aeromonas Hydrophila* infection with *Saprolegnia Sp.* *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 6, 85-89. DOI: 10.31890/vttp.2020.06.15.

Bacterial diseases are responsible for heavy mortality in both wild and cultured fish. Co-infections are very common in nature and occur when hosts are infected by two or more different pathogens either by simultaneous or secondary infections so that two or more infectious agents are active together in the same host.

Associative infections pose a significant threat to fish farming, so it is necessary to develop effective means of prevention and treatment of these infections; it is advisable to study in detail their impact on various fish.

The aim of the study was to determine the intensity of lipid peroxidation processes and the activity of the antioxidant defense system in the body of carp suffering from aeromonosis and the associated infection of aeromonosis with saprolegniosis.

The research was conducted at the Lviv Research Station of the Institute of Fisheries of NAAS. There were three groups of fish, 5 in each. The control group consisted of clinically healthy fish, the first experimental group (D1) – carps affected by *Aeromonas hydrophila* infection, the second experimental group (D2), which consisted of carps affected by associative *Aeromonas hydrophila* infection with *Saprolegnia Sp.*

The results of studies have shown that carp with associative infection – of *Aeromonas hydrophila* infection with *Saprolegnia Sp.* leads to the activation of lipid peroxidation processes, especially the primary product of LPO. Thus, in the hepatopancreas of fish there was an increase of 1.4 ($p < 0.05$) in the reasonable content of diene conjugates and there was a tendency to increase the content of TBA-active products.

At the same time, the inhibitory effect of pathogenic factors of this disease on the activity of the enzymatic link of the antioxidant defense system was stated. In particular, carp patients with associative infection – of *Aeromonas hydrophila* infection with *Saprolegnia Sp.* had higher catalase and superoxide dismutase activity, respectively, 1.3 ($p < 0.05$) and 2.3 ($p < 0.01$) times.

The results of experimental studies made it possible to expand and deepen the mechanisms of the pathogenesis of the co-infection of *Aeromonas hydrophila* infection with *Saprolegnia Sp.* and to use the data to develop effective treatments.

Key words: carp, co-infection, *Aeromonas hydrophila* infection, saprolegniosis, catalase, superoxide dismutase, lipid peroxidation.

**Состояние системы антиоксидантной защиты в гепатопанкреасе карпов при
ассоциированной инфекции аэромоноза с сапролегниозом**

К. Я. Солопова^{1*}, О. И. Вищур², М. З. Кориляк¹, И. Е. Соловодзинська³

¹Институт рыбного хозяйства НААН., Киев, Украина

²Институт биологии животных НААН., Львов, Украина

³Львовский национальный аграрный университет, Украина

Бактериальні захворювання являються передумовою високої смертності як у диких риб, так і у вирощених в аквакультурі. Не менш розповсюджені асоціативні інфекції (коінфекції) котрі виникають при ураженні риб двома або більше генетично різними збудителями. Асоціативні інфекції представляють значительну загрозу для прудового рибоводства, тому для розробки ефективних засобів профілактики і лікування цих інфекцій, цілеспрямовано детально досліджено їх вплив на різні види риб.

Ціль роботи заключалась у вивченні інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів і активності системи антиоксидантної захисти в організмі карпов, хворих аеромонозом і асоційованою інфекцією аеромоноза з сапролегніозом.

Експериментальна частина роботи проведена на двохлетках карпа в Львівській опытній станції Інституту рибного господарства НААН. Було сформовано 3 групи риб по 5 особей в кожній: контрольна група, котра складалась з клінічно здорових риб, перша опытна (Д1) – карпи хворі аеромонозом, друга опытна група (Д2) – карпи хворі асоційованою інфекцією (аеромоноз і сапролегніоз).

Результати проведених досліджень показали, що захворювання карпов аеромонозом з наслоєнням сапролегніозу призводить до активації процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), особливо первинного продукту ПОЛ. В частині, в гепатопанкреасі риб зафіксовано збільшення в 1,4 рази ($p < 0,05$) вмісту дієних кон'югатів і виявлено тенденція до збільшення вмісту ТБК-активних продуктів.

В той же час констатовано інгібувальний вплив патогенних агентів цього захворювання на активність ензимного ланки системи антиоксидантної захисти. В частині, в гепатопанкреасі карпов з асоційованою інфекцією – аеромоноза з сапролегніозом, встановлено вищу каталазну і супероксиддисмутазну активність, відповідно в 1,3 ($p < 0,05$) і 2,3 рази ($p < 0,01$).

Таким чином, результати проведених експериментальних досліджень дозволили розширити і глибше розкрити механізми патогенезу коінфекції аеромоноза з сапролегніозом і використовувати ці дані для розробки ефективних засобів лікування вказаних захворювань.

Ключові слова: карп, коінфекція, аеромоноз, сапролегніоз, каталаза, супероксиддисмутаза, перекисне окислення ліпідів.

Стан системи антиоксидантної захисти у гепатопанкреасі коропів з асоційованою інфекцією аеромонозу з сапролегніозом

Х. Я. Солопова¹, О. І. Віщур², М. З. Кориляк¹, І. Є. Соловодзінська³

¹ Інститут рибного господарства НААН, Київ, Україна

² Інститут біології тварин НААН, Львів, Україна

³ Львівський національний аграрний університет, Україна

Результати проведених досліджень показали, що захворювання коропів аеромонозом з наслоєнням сапролегніозу призводить до активації процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), особливо первинного продукту ПОЛ. Водночас констатовано інгібувальний вплив патогенних чинників цього захворювання на активність ензимної ланки системи антиоксидантної захисти.

Ключові слова: короп, коінфекція, аеромоноз, сапролегніоз, каталаза, супероксиддисмутаза, перекисне окислення ліпідів.

Вступ

Актуальність теми. Бактеріальні захворювання є причиною високої смертності як у диких риб, так і у риб, що вирощені в аквакультурі (Roberts, 2012). Не менш поширеними є асоціативні інфекції (коінфекції), які виникають за ураження риб двома або більше генетично різними збудителями, чи зараження вторинними інфекціями таким чином, що два або більше інфекційних агентів діють одночасно в одному організмі (Chandrarathna, Nikapitiya, Dananjaya, Wijerathne, Wimalasena, Kwun, & De Zoysa, 2018; Zou, Bird, & Secombes, 2010).

Аеромонози – інфекційні хвороби риб бактеріальної природи, що характеризуються септичним процесом, наявністю геморагій на поверхневих покриттях, утворенням виразок чи фурункулів (Austin, 2019).

Сапролегніоз – захворювання риби та ікри, що викликаються представниками декількох родів сапролегнієвих грибів (*Saprolegniales*), які є сапрофітами і постійно присутні у ґрунтах та воді водойм. Найчастіше сапролегніоз розвивається на тлі іншого захворювання чи в разі значного зниження захисних функцій організму риб, внаслідок погіршення умов вирощування (Carraschi, Garlich, Souza-Pollo,

Pereira, da Cruz, & Ranzani-Paiva, 2018; Baldissera, Souza, Abbad, da Rocha, da Veiga, da Silva, & Baldisserotto, 2020).

Аналіз останніх досліджень і публікацій. У літературі наявні дані про ураження коропів (*Cyprinus carpio*) асоціативним аеромонозом (*Aeromonas hydrophila*) із сапролегніозом (*Saprolegnia*) в скидних каналах електростанцій у Румунії (Lobova, Yemelyanova, Andreeva, Puchkova, & Repin, 2015). Також було зафіксовано аналогічну коінфекцію у риб аю (*Plecoglossus altivelis*) у Тайвані (Chang, Wu, Chung, & Chien, 2002); в морського окуня (*Dicentrarchus labrax*) за вирощування у рециркуляційних системах (Dinçtürk, Tanrikul, & Çulha, 2018); у сома (*Clarias gariepinus*) за вирощування у плавальних клітках (Kusdarwati, Kurniawan, & Prayogi, 2017).

Відомо, що утворення в організмі вільних радикалів, як і процес перекисного окислення ліпідів, належить до фізіологічних процесів, а їх перебіг у клітинах та тканинах регулюється функціонуванням системи антиоксидантної захисти (АОЗ), що сприяє забезпеченню вільнорадикального гомеостазу в організмі. Однак, ця рівновага може порушуватись за дії різних несприятливих чинників, зокрема – неповноцінної годівлі, порушення умов утримання, чи

хвороби риб (Yuan, Li, Meng, Gong, Qian, Shi, & Wang, 2017).

Асоціативні інфекції становлять значну загрозу ставковому рибицтву, тому для ефективної боротьби з ними є доцільним детальне дослідження впливу чинників цих захворювань на організм риб.

Мета роботи полягала у з'ясуванні інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів та активності системи антиоксидантного захисту в організмі коропів, хворих на аеромоноз та асоційовану інфекцію аеромонозу з сапролегніозом.

Завдання дослідження: встановити активність антиоксидантних ензимів та вміст ТБК-активних продуктів у гепатопанкреасі коропів, хворих на аеромоноз та асоційовану інфекцію аеромонозу з сапролегніозом.

Матеріал і методи досліджень

Експериментальну частину роботи виконували на дволітках коропа у Львівській дослідній станції Інституту рибного господарства НААН. Було сформовано 3 групи риб по 5 особин у кожній, середньою масою $316,03 \pm 17,81$ г та довжиною $23,58 \pm 0,55$ см. Контрольна група складалася з клінічно здорових риб, перша дослідна група (Д1) – коропи хворі на аеромоноз, друга дослідна група (Д2) – коропи хворі асоційованою інфекцією – аеромонозом з сапролегніозом. Для біохімічних досліджень використовували 10 %-й гомогенат тканин гепатопанкреасу. Попередньо перед відбором проб до риб застосовували наркоз з використанням ефірної олії гвоздики (*Oleum Caryophylli*).

Діагноз на аеромоноз ставили за результатами бактеріологічного дослідження (проведено виділення та ідентифікацію збудника – *Aeromonas hydrophila*) (Goodfellow, Kämpfer, Busse, Trujillo, Suzuki, Ludwig, & Whitman (Eds.), 2012), з урахуванням епізоотологічних даних, клінічних ознак і патологоанатомічних змін. Діагноз на сапролегніоз ставили на основі епізоотологічних даних, клінічних ознак та мікроскопування гіфів грибів на рибі.

У зразках гепатопанкреасу риб досліджували концентрацію дієнових кон'югатів за методом, що ґрунтується на реакції оптичної густини гептанізопропанольного екстракту ліпідів (Stalnaya, 1977); визначення концентрації ТБК-активних продуктів проводили спектрофотометрично за кольоровою реакцією з тіобарбітуровою кислотою (Korobejnikova, 1989); активність супероксиддисмутази (СОД) – за визначенням відсотка гальмування реакції відновлення нітросинього тетразолію в присутності феназинметасульфату (Dubinina, Salnikova, & Efimova, 1983); активність каталази – за зміною концентрації H_2O_2 (Korolyuk, Majorova, & Tokarev, 1988); визначення вмісту білка проводили за методом Бредфорда (Bradford, 1976).

Усі маніпуляції з тваринами здійснювали згідно з Європейською конвенцією «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Експерименти проводили з дотриманням принципів гуманності, викладених у директиві Європейської Спільноти.

Результати та їх обговорення

Однією із основних змін клітинного метаболізму є активація пероксидного окиснення ліпідів, за якого утворюються дієнові кон'югати, гідроперекиси ліпідів та ТБК-активні продукти. Продукти ПОЛ є невід'ємною

частиною здорового організму та сприяють підтриманню сталого біохімічного статусу клітин (Vinodhini, & Narayanan, 2009). У нормальних умовах їх кількість у тканинах знаходиться на сталому рівні. Проте збільшення продуктів ПОЛ може свідчити про порушення захисної функції організму, а зменшення – детектуються за хронічних захворювань.

Проведені дослідження показали (табл. 1), що ураження коропів асоційованою формою аеромонозу з нашаруванням сапролегніозу спричиняє зростання вмісту продуктів ПОЛ у гепатопанкреасі. Так, вміст дієнових кон'югатів, первинного продукту пероксидного окиснення ліпідів, у гепатопанкреасі риб першої і другої дослідних груп був відповідно в 1,2 і 1,4 ($p < 0,05$) рази більший, ніж у контрольній. Разом з цим у гепатопанкреасі коропів за асоційованої інфекції виявлено тенденцію до зростання вмісту кінцевого продукту ПОЛ – ТБК-активних продуктів.

Таблиця 1

Вміст продуктів ПОЛ у гепатопанкреасі досліджуваних коропів ($M \pm m$, $n=4$)

Показники	Група риб		
	контроль	перша дослідна група (Д1)	друга дослідна група (Д2)
ТБК, нмоль/мг білка	$1,91 \pm 0,13$	$1,92 \pm 0,47$	$2,03 \pm 0,37$
Дієнові кон'югати, нмоль /мг білка	$0,98 \pm 0,07$	$1,27 \pm 0,75$	$1,39 \pm 0,14^*$

Примітка. * $p < 0,05$ – різниця вірогідності відносно коропів контрольної групи

Таким чином, як показали результати досліджень, у коропів другої дослідної групи, яку становили коропи із асоційованою інфекцією аеромонозу із сапролегніозом, вміст продуктів ПОЛ більший, ніж у першій дослідній групі, яку становили коропи уражені аеромонозом. Ці дані свідчать про більший інгібуючий вплив асоційованої інфекції на інтенсивність процесів ПОЛ в організмі коропів.

Отже, ураження коропів асоційованим захворюванням аеромонозу з нашаруванням сапролегніозу призводить до активації процесів пероксидного окиснення ліпідів у гепатопанкреасі риб на початкових стадіях окиснення, а саме – на стадії утворення дієнових кон'югатів. Подібні зміни вмісту продуктів ПОЛ у коропів зафіксовані при змішаній інвазії ектопаразитами (Loboiko, & Danko, 2015), а також отримані нами результати досліджень узгоджуються з даними інших авторів, які вказують на посилення інтенсивності процесів ПОЛ при захворюванні коропів на асоційовану бактеріальну форму краснухи (Tushnicka, Yanovich, & Matviyenko, 2006).

Відомо, що у процесі еволюції в організмі риб виробилися спеціальні механізми захисту від деструктивної дії продуктів ПОЛ, які дістали назву антиоксидантної системи. Її роль полягає у регуляції інтенсивності утворення активних форм кисню (АФК) та знешкодженні продуктів ПОЛ (Silva, Serrano, Oliveira, Mansano, Almeida, & Vieira, 2018; Modesto, & Martinez, 2010).

З даних, що наведені у таблиці 2 бачимо, що активність ключових антиоксидантних ензимів – супероксиддисмутази та каталази у гепатопанкреасі коропів дослідних груп значно нища, ніж в особин контрольної групи. Ці зміни були виражені більшою мірою у риб другої дослідної групи, яку становили коропи з асоційованою інфекцією аеромонозу із

сапролегніозом. Зокрема, каталазна активність у гепатопанкреасі коропів, хворих аеромонозом асоційованим з сапролегніозом (Д2), була в 1,3 раза ($p < 0,05$) нища, ніж у клінічно здорової риби контрольної

групи (табл. 2). Відомо, що серед усіх органів найбільше каталази знаходиться у печінці. Це один з головних ензимів руйнування АФК, тобто каталаза основний первинний антиоксидант системи захисту.

Таблиця 2

Активність антиоксидантних ензимів у гепатопанкреасі коропів ($M \pm m$, $n=4$)

Показники	Група риб		
	контроль	Перша дослідна група (Д1)	Друга дослідна група (Д2)
Каталаза, мкмоль H_2O_2 /хв. х мг білка	46,09±0,01	45,82±0,63	36,63±3,24*
СОД, ум. од./хв. х мг білка	11,59±0,92	8,77±0,55*	5,08±0,62**

Примітка.* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – різниці вірогідності відносно коропів контрольної групи

Супероксиддисмутаза є ключовим ензимом антиоксидантної системи. Вона знешкоджує супероксидні радикали, перетворюючи їх на менш токсичний пероксид водню. При дослідженні супероксиддисмутазної активності у гепатопанкреасі коропів виявлено її зниження у 1,3 рази ($p < 0,05$) в першій дослідній групі та у 2,3 ($p < 0,01$) – в другій дослідній групі у порівнянні з контрольною. Ці дані свідчать, що ураження коропів збудниками аеромонозу з нашаруванням сапролегніозу спричиняє інгібуючий вплив на активність ключових ензимів антиоксидантної системи. Зниження супероксиддисмутазної та каталазної активності у гепатопанкреасі коропів можна розглядати як прояв певного виснаження антиоксидантного потенціалу організму внаслідок поступового пошкодження її компонентів вільними радикалами і продуктами ПОЛ.

Висновки

1. Захворювання коропів аеромонозом з нашаруванням сапролегніозу призводить до активації процесів пероксидного окиснення ліпідів і зниження антиоксидантного потенціалу у гепатопанкреасі коропів, про що свідчать збільшення в 1,4 рази ($p < 0,05$) вмісту дієнових конюгатів і зниження в 1,3 ($p < 0,05$) і 2,3 ($p < 0,01$) рази відповідно каталазної і супероксиддисмутазної активності.

2. Проведені дослідження дали можливість розширити і глибше розкрити механізми патогенезу коінфекції аеромонозу із сапролегніозом та використати ці дані для розробки ефективних способів лікування.

Перспективи подальших досліджень. Актуальним є дослідження активності природних механізмів захисту коропів, уражених асоційованою інфекцією аеромонозу із сапролегніозом.

References

Austin, B. (2019). Methods for the diagnosis of bacterial fish diseases. *Marine Life Science & Technology*, 1-9. DOI: [10.1007/s42995-019-00002-5](https://doi.org/10.1007/s42995-019-00002-5).

Baldissera, M. D., Souza, C. F., Abbad, L. B., da Rocha, M. I. U., da Veiga, M. L., da Silva, A. S., & Baldisserotto, B. (2020). Oxidative stress in liver of grass carp *Ctenopharyngodon idella* naturally infected with *Saprolegnia parasitica* and its influence on disease pathogenesis. *Comparative Clinical Pathology*, 1-6. DOI: [10.1111/are.14567](https://doi.org/10.1111/are.14567).

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.

Carraschi, S. P., Garlich, N., Souza-Pollo, A., Pereira, D. I. B., da Cruz, C., & Ranzani-Paiva, M. J. T. (2018). Isolation of *Saprolegnia aenigmatica* oomycetes and protocol for experimental infection of pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Acta Scientiarum*.

Biological Sciences, 40, e38186-e38186. DOI: [10.4025/actasciobiolsci.v40i1.38186](https://doi.org/10.4025/actasciobiolsci.v40i1.38186)

Chandrarathna, H. P. S. U., Nikapitiya, C., Dananjaya, S. H. S., Wijerathne, C. U. B., Wimalasena, S. H. M. P., Kwun, H. J., ... & De Zoysa, M. (2018). Outcome of co-infection with opportunistic and multidrug resistant *Aeromonas hydrophila* and *A. veronii* in zebrafish: Identification, characterization, pathogenicity and immune responses. *Fish & shellfish immunology*, 80, 573-581. DOI: [10.1016/j.fsi.2018.06.049](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.06.049)

Chang, P. H., Wu, T. P., Chung, H. Y., & Chien, C. Y. (2002). *Aeromonas hydrophila* and *Saprolegnia australis* isolated from Ayu, *Plecoglossus altivelis* with ulcerative skin disease in Taiwan. *Bulletin european association of fish pathologists*, 22(6), 393-399.

Dinçtürk, E., Tanrikul, T. T., & Çulha, S. T. (2018). Fungal and Bacterial Co-Infection of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus 1758) in a Recirculating Aquaculture System: *Saprolegnia parasitica* and *Aeromonas hydrophila*. *Aquatic Sciences and Engineering*, 33(3), 67-71. DOI: [10.26650/ASE201811](https://doi.org/10.26650/ASE201811)

Dubinina, E. E., Salnikova, L. Ya., Efimova, L. Ya. (1983). Aktivnost i izofermentnyj spektr SOD eritrocitov. *Laboratornoe delo*, 10, 30–33. [in Russian]

Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H. J., Trujillo, M. E., Suzuki, K. I., Ludwig, W., & Whitman, W. B. (Eds.). (2012). *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*. Springer New York. DOI: [10.1007/978-0-387-21609-6](https://doi.org/10.1007/978-0-387-21609-6)

Korobejnikova, Ye. N. (1989). Modifikaciya opredeleniya produktov perekisnogo oksleniya lipidov v reakcii s tiobarbiturovoj kislotoj. *Laboratornoe delo*, 7, 8–9. [in Russian]

Korolyuk, M. A., Majorova, I. G., & Tokarev, V. E. (1988). Metod opredeleniya aktivnosti katalazy. *Laboratornoe delo*, 1, 16–18. [in Russian]

Kusdarwati, R., Kismiyati, Sudarno, Kurniawan H., & Prayogi, Y.T. (2017). Isolation and identification of *Aeromonas hydrophila* and *Saprolegnia* sp. on catfish (*Clarias gariepinus*) in floating cages in Bozemo Moro Krembangan Surabaya. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 55(1), 012038. DOI: [10.1088/1755-1315/55/1/012038](https://doi.org/10.1088/1755-1315/55/1/012038)

Loboiko, Y. V., & Danko, M. M. (2015). Content of products of lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in tissues of carp with mixed infestation by ectoparasites. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 17(1), 90-95. Retrieved from <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/25>. [in Ukrainian]

- Lobova, T. I., Yemelyanova, E., Andreeva, I. S., Puchkova, L. I., & Repin, V. Y. (2015). Antimicrobial resistance and plasmid profile of bacterial strains isolated from the urbanized Eltsovka-1 River (Russia). *Microbial Drug Resistance*, 21(4), 477-490.
DOI: [10.1089/mdr.2014.0203](https://doi.org/10.1089/mdr.2014.0203).
- Modesto, K. A., & Martinez, C. B. (2010). Effects of Roundup Transorb on fish: hematology, antioxidant defenses and acetylcholinesterase activity. *Chemosphere*, 81(6), 781-787.
DOI: [10.1016/j.chemosphere.2010.07.005](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.07.005).
- Roberts, R. J. (2012). *Fish pathology*. John Wiley & Sons.
DOI: [10.1002/9781118222942](https://doi.org/10.1002/9781118222942).
- Silva, D. C., Serrano, L., Oliveira, T. M., Mansano, A. S., Almeida, E. A., & Vieira, E. M. (2018). Effects of parabens on antioxidant system and oxidative damages in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 162, 85-91.
DOI: [10.1016/j.ecoenv.2018.06.076](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.076).
- Stalnaya, I. D. (1977). *Metod opredeleniya dienovoj konyugacii nenasyshtennykh vysshih zhirnyh kislot. Sovremennye metody v biohimii*. Moskva: Medicina. 63. [in Russian]
- Tushnicka, N. J., Yanovich, V. G., & Matviyenko, N. M. (2006). Antioksidantnij status koropa pri zahvoryuvanni asocijovanoyu formoyu krasnuhi. *Nauk.-tehn. byul. Inst. biol. tvar. ta DNDKI vetprep. i korm. dob.*, 7. 182-186. [in Ukrainian]
- Vinodhini, R., & Narayanan, M. (2009). Biochemical changes of antioxidant enzymes in common carp (*Cyprinus carpio* L.) after heavy metal exposure. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 33(4), 273-278.
DOI: <https://doi.org/10.3906/vet-0711-18>.
- Yuan, L., Li, M., Meng, F., Gong, Y., Qian, Y., Shi, G., & Wang, R. (2017). Growth, blood health, antioxidant status, immune response and resistance to *Aeromonas hydrophila* of juvenile yellow catfish exposed to di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 202, 79-84.
DOI: [10.1016/j.cbpc.2017.08.004](https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2017.08.004).
- Zou, J., Bird, S., & Secombes, C. (2010). Antiviral sensing in teleost fish. *Current Pharmaceutical Design*, 16(38), 4185-4193.
DOI: [10.2174/138161210794519093](https://doi.org/10.2174/138161210794519093).