

СТОРИНКА МОЛОДОГО ВЧЕНОГО

Ribogospod. nauka Ukr., 2017; 4(42): 121-127

DOI: 10.15407/fsu2017.04.121

УДК [639.371.52 : 612.017.1]:[639.3.043 : 636.087.72/.73]

СТАН СИСТЕМИ ІМУННОГО ЗАХИСТУ ПЛІДНИКІВ КОРОПА (*CYPRINUS CARPIO LINNAEUS, 1758*) ЗА РІЗНОГО РІВНЯ ВІТАМІНУ Е ТА СЕЛЕНУ В ЇХ РАЦІОНІ

С. В. Юрчак, Suzanna.8n@gmail.com, Львівська дослідна станція ІРГ НААН, смт Великий Любінь

Мета. Оцінка стану імунної системи організму плідників коропа, яким впродовж переднерестового періоду в складі комбікорму згодовували ліпосомальний препарат з вітаміном Е та органічною сполукою мікроелементу Селену.

Методика. Дослід проведено у шести експериментальних садках, в які після зимівлі риб було поміщено самиць та самців коропа. Першій дослідній групі риб до основного раціону додатково вводили ліпосомальну добавку вітаміну Е (фармацевтичний препарат «Альфа-токоферол ацетат») за концентрації 50 мг/кг корму та Селену (препарат «Sel-Plex») — 0,3 мг/кг. Друга дослідна група отримувала добавку вітаміну Е у кількості 100 мг/кг та Селену 0,3 мг/кг. Контрольна група риб отримувала кормосуміш без вітамінно-мінеральної добавки. Ліпосомальну емульсію готували на ультразвуковому диспергаторі за частоти 35 Гц.

Після завершення 30-денної переднерестової годівлі збагаченими комбікормами у риб контрольної та двох дослідних груп було відібрано зразки крові для проведення біохімічних досліджень. Визначення відносної кількості Т-лімфоцитів проводили за допомогою методу спонтанного та індукованого розеткоутворення. При підрахунку кількості Т- і В-лімфоцитів та їх регуляторних субпопуляцій на фіксованих і фарбованих мазках крові визначали лімфоцити з низькою (З–5), середньою (6–10) і високою (М) щільністю рецепторів і функціонально недиференційовані лімфоцити (0).

Результати. З'ясовано, що переднерестова годівля самиць та самців коропа комбікормами у поєднанні із досліджуваною вітамінно-мінеральною добавкою позитивно впливає на вміст Т-, В-лімфоцитів та їх субпопуляцій у крові риб. А саме, встановлено збільшення кількості Т-лімфоцитів та підвищення їх функціональної активності. Також зростає кількість Т- і В-лімфоцитів із середньою і високою щільністю рецепторів та зменшується кількість «нульових» клітин.

Наукова новизна. Вперше досліджено дію ліпосомального препарату з вітаміном Е та мікроелементом Se, який згодовували плідникам коропа в переднерестовий період, на вміст Т-, В-лімфоцитів та їх субпопуляцій у периферичній крові риб.

Практична значимість. Результати роботи можуть використовуватися у племінних рибницьких центрах та повносистемних фермерських господарствах для збалансування переднерестової годівлі плідників коропа.

Ключові слова: плідники коропа, переднерестовий період, ліпосомальний препарат, вітамін Е, мікроелемент Se, Т-, В-лімфоцити.

© С. В. Юрчак, 2017



ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Період переднерестового дозрівання коропів настає після довгого зимового анабіозу, який в цілому є стресовим чинником, що випробовує функціональний стан імунної системи [1]. Остання зумовлює резистентність організму, впливає на якість дозрівання статевих продуктів та визначає майбутню ефективність нерестових процесів [2, 3]. Встановлено залежність реакції антигенного подразнення у риб від повноцінності годівлі [4]. Отже, особливе значення в переднерестовий період надається збалансованій годівлі статевозрілих особин, яка не лише поповнює пластично-енергетичні ресурси організму для нерестових процесів, але й стимулює захисні процеси, передаючи цей потенціал потомству [5–7].

Для досягнення позитивних результатів у рибництві з якісно збалансованими комбікормами часто використовують комплекси різних біологічно активних речовин, зокрема антиоксидантів. Вагому роль серед них відіграють токоферолі (які входять до складу вітаміну Е) та селен, які проявляють синергічну дію [8-10].

ВИДІЛЕННЯ НЕВИРІШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ. МЕТА РОБОТИ

В науковій літературі недостатньо інформації щодо впливу вітаміну Е та селену на резистентність плідників коропа в переднерестовий період. Виходячи з цього, метою роботи є дослідження окремих аспектів функціонування імунітету коропа за дії вищезгаданих елементів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводились на базі Львівської дослідної станції Інституту рибного господарства НААН в умовах замкнутого водопостачання у шести експериментальних басейнах. У них, після зимівлі риб, було поміщено чотирирічних статевозрілих самиць та самців українського лускатого коропа любінського внутрішньопорідного типу, по шість особин у кожній групі. Риб протягом місяця двічі на день годували збалансованою кормосумішшю, до складу якої входили: рибне борошно, пшениця, житнє борошно, олія. Самцям і самицям коропа першої дослідної групи до основного раціону додатково вводили добавки вітаміну Е з розрахунку 50 мг/кг і препарат «Sel-Plex» з розрахунку на вміст селену — 0,3 мг/кг корму. Друга дослідна група отримувала добавки вітаміну Е у кількості 100 мг/кг та селену — 0,3 мг/кг. Контрольна група риб отримувала вказану кормосуміш без додавання вітамінно-мінеральних добавок.

Нормування годівлі здійснювали за загальноприйнятими у рибництві нормативами, з урахуванням потреб плідників, в залежності від температури та вмісту розчиненого у воді кисню.

Після завершення 30-денної переднерестової годівлі збагаченими комбікормами у риб контрольної та дослідних груп було відібрано зразки крові.

Визначення відносної кількості Т-лімфоцитів проводили за допомогою методу спонтанного та індукованого розеткоутворення з еритроцитами барана як маркерами. Принцип методу полягає в здатності лімфоцитів, за відповідних умов, утворювати так звані «розетки» з гетерогенними еритроцитами, в центрі яких



знаходиться лімфоцит, а по периферії — еритроцити, завдяки наявності на мембранах лімфоцитів специфічних рецепторів. За кількістю еритроцитів, адсорбованих одним лімфоцитом, визначають ступінь активності Т-клітин, оскільки цей феномен зумовлений щільністю рецепторів на поверхні лімфоцитів і характеризує функціональні властивості останніх. Метод ідентифікації В-лімфоцитів ґрунтується на наявності в них мембранних імуноглобулінових рецепторів, що забезпечує приєднання до В-лімфоцитів індикаторних клітин, які на своїй поверхні містять комплемент-антиген-комплекс (ЕАС-РУЛ). Як індикаторні клітини використовували еритроцити барана, сенсibilізовані антитілами і комплементом.

При підрахунку кількості Т- і В-лімфоцитів та їх регуляторних субпопуляцій на фіксованих і фарбованих мазках крові визначали лімфоцити з низькою (3–5), середньою (6–10) і високою (М) щільністю рецепторів і функціонально недиференційовані лімфоцити (0).

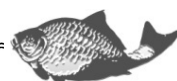
Результати досліджень опрацьовані статистично за допомогою програми «Microsoft Excel».

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На підставі одержаних даних встановлено, що згодовування коропам першої і другої дослідних груп додатково до базового корму добавок вітаміну Е та селену впливає на кількість Т- і В-лімфоцитів та їх окремих клітинних популяцій у крові. Зокрема, у коропів першої дослідної групи, яким додатково до основного корму згодовували добавки вітаміну Е з розрахунку 50 мг/кг та селен, кількість загальних Т-лімфоцитів (Е-РУЛ) і теофілін-резистентних (Th) була більшою відповідно на 12,0 і 10,2% ($p < 0,05$), ніж у особин контрольної групи (табл. 1).

Таблиця 1. Вплив вітаміну Е та селену на вміст різного типу лімфоцитів у крові плідників коропа

Показники	Групи риб		
	контроль	дослід 1	дослід 2
Загальні (Е-РУЛ), 0	66,33±0,67	63,50±1,50	65,33±0,88
3–5	18,33±0,67	16,00±0,00	20,33±0,67
6–10	15,33±0,88	19,00±0,67	13,67±0,88
М	1,33±0,33	1,50±0,50	0,67±0,67
%	37,70±0,88	34,67±0,88	33,67±0,67
Активні (А-РУЛ), 0	59,33±0,88	55,00±1,20	58,33±1,20
3–5	24,67±0,88	24,50±1,50	23,33±0,33
6–10	15,00±0,58	18,50±0,50	17,00±1,00
%	40,67±0,88	44,50±0,67	41,67±1,20
Т – хелпери, 0	72,33±0,88	73,50±0,50	71,67±0,33
3–5	16,67±0,88	16,50±0,50	17,00±0,58
6–10	9,33±0,33	8,50±0,50	9,67±0,33
%	27,67±0,88	30,50±0,50	28,33±0,33
Т– супресори	6,00±0,58	7,20±1,0	6,33±0,88



При цьому зростання кількості Е-ПУЛ у крові коропів цієї групи відбувалось за рахунок збільшення Т-лімфоцитів з середньою щільністю рецепторів на 23,9% ($p < 0,05$) і зниження «нульових», недиференційованих у функціональному відношенні клітин на 4,3%.

Відомо, що популяція Т-лімфоцитів крові риб 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 сенсibiliзації.

Проведені дослідження показали, що згодовування коропам першої дослідної групи додатково до основного корму добавок вітаміну Е з розрахунку 50 мг/кг та селену, приводить до збільшення у крові кількості «активних» Т-лімфоцитів ($p < 0,05$). При цьому, в особин цієї групи кількість А-ПУЛ з середньою щільністю рецепторів була більшою на 23,3% ($p < 0,05$), а «нульових» — меншою на 7,3% ($p < 0,05$), ніж у контрольної. У коропів другої групи, яким додатково до основного корму згодовували добавки вітаміну Е з розрахунку 100 мг/кг та селену виявлено тенденцію до збільшення кількості Е-ПУЛ з низькою щільністю рецепторів (див. табл. 1).

Наведені у табл. 2 дані свідчать про те, що кількість антигенів, які зв'язують В-лімфоцити (ЕАС-ПУЛ) у крові коропів контрольної і дослідних груп за період досліджень істотно не відрізнялась ($p < 0,05$).

Таблиця 2. Вплив вітаміну Е та селену на вміст В-лімфоцитів у крові плідників коропа

Показники	Групи риб		
	контроль	дослід 1	дослід 2
В-лімфоцити (ЕАС-ПУЛ),0	75,00±1,16	71,00±0,50	73,0±1,0
3–5	12,33±0,58	12,50±1,50	15,30±0,88
6–10	11,00±0,58	14,50±1,00	11,00±0,58
М	1,70±0,30	2,0±0,0	0,7±0,3
%	25,0±1,2	26,5±1,5	25,0±1,0

Водночас, у крові коропів, яким додатково до основного раціону введено добавки вітаміну Е з розрахунку 50 мг/кг та селену, виявлено більшу кількість ЕАС-ПУЛ з середньою і високою щільністю рецепторів, а саме: на 31,8 ($p < 0,05$) та 17,6% ($p < 0,05$) відповідно, і меншу на 5,3% «нульових», недиференційованих у функціональному відношенні клітин ($p < 0,05$). При цьому у крові коропів другої групи, порівняно з контрольною, встановлено більшу кількість ЕАС-ПУЛ з низькою щільністю рецепторів ($p < 0,05$).

В останні роки особливе значення надається тесту «активного» Е-розеткоутворення, оскільки він дозволяє виявити порушення Т-системи імунітету і корелює з функціональним станом клітинних ланок імунітету. Проведені дослідження показали, що після згодовування коропам дослідної групи вітаміну Е із розрахунку 50 мг/кг і органічної форми селену у їх крові вірогідно збільшується



кількість Т-лімфоцитів (загальних, активних і теофілін-резистентних) і зростає їхня функціональна активність за рахунок перерозподілу рецепторного апарату імунокомпетентних клітин у бік зміцнення їхньої авідності. Зокрема, зростає кількість Т- і В-лімфоцитів з середньою і високою щільністю рецепторів і зменшується число «нульових», недиференційованих у функціональному відношенні клітин. Водночас, загальна кількість В-лімфоцитів при цьому не змінюється. З цих даних випливає, що вітамін Е і селен позитивно впливають на рецепторний апарат імунокомпетентних клітин. При цьому збільшується кількість Т-лімфоцитів і зростає функціональна активність Т- і В-лімфоцитів крові. Ці зміни були виражені більшою мірою у короїв, яким додатково до основного корму згодовували добавки вітаміну Е з розрахунку 50 мг/кг. Підвищення функціональної активності Т- і В-лімфоцитів у крові короїв, яким згодовували вітамін Е і селен, свідчить про позитивну комплексну дію вказаних чинників на функціонування імунокомпетентних клітин. Зростання функціональної активності Т- і В-лімфоцитів у крові короїв дослідних груп може бути спричинено позитивним впливом вітаміну Е і селену на активність антиоксидантної системи і процеси перекисного окиснення ліпідів, що сприяють нормалізації метаболічних умов імунокомпетентних клітин. Ці результати узгоджуються з наявними у літературі даними про стимулюючий вплив вітаміну Е і селену на синтез білків у різних органах і тканинах, на процеси клітинної проліферації і диференціації.

Отже, згодовування короїам додатково до основного раціону добавок вітаміну Е та селену (препарату «Sel-Plex») впливає на функціональні властивості В-лімфоцитів крові, зокрема, зміцнює рецепторний апарат клітин, активує Т-клітинну ланку імунітету в їхньому організмі, що призводить до збільшення кількості Т-активних лімфоцитів у крові.

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШОГО РОЗВИТКУ

Додаткове введення вітаміну Е за концентрації 50 мг/кг та Se до складу раціону самиць та самців короїа в переднерестовий період приводить до вірогідного збільшення кількості Т-лімфоцитів (загальних, активних і теофілін-резистентних) і до зростання їхньої функціональної активності.

Збільшується кількість Т- і В-лімфоцитів з середньою і високою щільністю рецепторів і зменшується число «нульових», недиференційованих у функціональному відношенні клітин, що свідчить про позитивний вплив на рецепторний апарат імунокомпетентних клітин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Микряков В. Р. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск, 1991. 154 с.
2. Лукьяненко В. И. Иммунобиология рыб: врожденный иммунитет. Москва : Агропромиздат, 1989. 271 с.
3. Van Muiswinkel W. B. A history of fish immunology and vaccination I. The early days // *Fish Shellfish Immunol.* 2008. Vol. 25, iss. 4. P. 397–408.
4. Лукьяненко В. И. Иммунобиология рыб. Москва. Агропромиздат, 1970. 369 с.
5. Грициняк І. І., Третяк О. М. Пріоритетні напрями наукового забезпечення рибного господарства України // *Рибогосподарська наука України.* 2007. №1/С. 5–20



6. Катасонов В. Я., Черфас Н. Б. Селекция рыб и племенное дело в рыбоводстве. Москва : Агропромиздат, 1986. 182 с.
7. Вихман А. А. Иммунофизиологический статус рыб-объектов аквакультуры : автореф. дис. На соискание ученой степени докт. биол. наук : 03.00.10. Москва, 1994. 48 с.
8. Годівля рыб. Шерман І. М. та ін. Київ : Вища освіта, 2001. 269 с.
9. Куртяк Б. М., Янович В. Г. Жиророзчинні вітаміни у ветеринарній медицині і тваринництві. Львів : Триада плюс, 2004. 226 с.
10. Мовчан В. Основи годівлі ставових рыб. Київ : Видавництво Наркомпостачання УСРР, 1934. 88 с.

REFERENCES

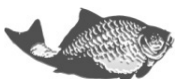
1. Mikrjakov, V. R. (1991). *Zakonomernosti formirovanija priobretennogo immuniteta u ryb*. Rybinsk.
2. Luk'janenko, V. I. (1989). *Immunobiologija ryb: vrozhdennyj immunitet*. Moskva. Agropromizdat.
3. Van Muiswinkel, W. B. (2008). A history of fish immunology and vaccination I. The early days. *Fish Shellfish Immunol*, 4, 397–408.
4. Luk'janenko, V. I. (1970). *Immunobiologija ryb*. Moskva : Agropromizdat.
5. Hrytsyniak I. I., & Tretiak O.M. (2007). Priorityetni napriamy naukovoho zabezpechennia rybnoho hospodarstva Ukrainy. *Rybohospodarska nauka Ukrainy* №1, 5–20.
6. Katasonov, V. Ja., & Cherfas, N.B. (1986). *Selekcija ryb i plemennoe delo v rybovodstve*. Moskva: Agropromizdat.
7. Vihman, A. A. (1994). Immunofiziologicheskij status ryb-obektov akvakul'tury. *Extchded abstraet of doctors Hesis*.
8. Sherman I. M., Hrynzhhevskiy, M. V., Zheltoy, Yu. O., Pylypenko, Yu. V., & Volichenko, M. I., & Hrytsyniak I. I. (2001). *Hodivlia ryb*. Kyiv : Vyshcha osvita.
9. Kurtiak, B. M., & Yanovych, V. H. (2004). *Zhyrorozchynni vitaminy u veterynarnii medytsyni i tvarynnyystvi*. Lviv: Triada plus.
10. Movchan, V. (1934). *Osnovy hodivli stavovykh ryb*. Kyiv. Vydavnytstvo Narkompostachannia USRR.

СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ КАРПА (*CYPRINUS CARPIO LINNAEUS, 1758*) ПРИ РАЗЛИЧНОМ УРОВНЕ ВИТАМИНА Е И СЕЛЕНА В РАЦИОНЕ

С. В. Юрчак, Suzanna.8n@gmail.com, Львовская опытная станция ИРХ НААН, пгт. Великий Любень

Цель. Оценка иммунной системы организма производителей карпа, которым в преднерестовый период скармливали с комбикормом липосомальный препарат с витамином Е и органическим соединением микроэлемента Селена.

Методика. Опыт проведен в трех экспериментальных садках, в которые после зимовки были помещены самки и самцы карпа. Первой опытной группе рыб в основной рацион дополнительно вводили добавки витамина Е в концентрации 50 мг/кг корма и Селена — 0,3 мг/кг. Вторая подопытная группа получала добавки витамина Е в количестве 100 мг/кг и селена — 0,3 мг/кг. Контрольная группа рыб получала указанную кормосмесь без добавления витаминно-минеральной добавки. Липосомальную эмульсию готовили на ультразвуковом диспергаторе при частоте 35 Гц.



После завершения 30-дневного преднерестового кормления обогащенными комбикормами у рыб контрольной и двух опытных групп были отобраны образцы крови для проведения биохимических исследований. При подсчете количества Т- и В-лимфоцитов и их регуляторных субпопуляций на фиксированных и окрашенных мазках крови определяли лимфоциты с низкой (3–5), средней (6–10) и высокой (М) плотностью рецепторов и функционально недифференцированные лимфоциты (0).

Результаты. Выяснено, что преднерестовое кормление самок и самцов карпа комбикормами в сочетании с вышеуказанной витаминно-минеральной добавкой положительно влияет на содержание Т-, В-лимфоцитов и их субпопуляций в крови рыб. А именно, наблюдается увеличение количества Т-лимфоцитов и повышение их функциональной активности. Возрастает также количество Т- и В-лимфоцитов со средней и высокой плотностью рецепторов и уменьшается количество «нулевых» клеток.

Научная новизна. Впервые исследовано действие липосомального препарата с витамином Е и микроэлементом Se, который скармливали производителям карпа в преднерестовый период, на содержание Т-, В-лимфоцитов и их субпопуляций в периферической крови рыб.

Практическая значимость. Результаты работы могут использоваться в племенных рыбоводных центрах и полносистемных фермерских хозяйствах для сбалансирования преднерестового кормления производителей.

Ключевые слова: производители карпа, преднерестовый период, липосомальный препарат, витамин Е, микроэлемент Se, Т-, В – лимфоциты.

STATE OF THE IMMUNE PROTECTION SYSTEM OF BROOD CARP (*CYPRINUS CARPIO* LINNAEUS, 1758) BASED ON VITAMIN E AND SELENIUM LEVELS IN THEIR DIET

S. Yurchak, Suzanna.8n@gmail.com, Lviv Experimental Station, Velykyi Lyubin

Purpose: To assess the state of the immune system of brood carp, which were fed with a combined feed containing a liposomal preparation with vitamin E and organic compound of selenium microelement during pre-spawning period.

Methodology: The study has been performed in three experimental ponds, in which carp females and males were placed after wintering. The first experimental group was fed with a diet supplemented with vitamin E at a concentration of 50 mg/kg of the feed and selenium – 0.3 mg/kg. The second experimental group received the supplement of vitamin E at a concentration of 100 mg/kg and selenium – 0.3 mg/kg. The control group received the mentioned combined feed without addition of the vitamin-mineral supplement. After termination of 30-day pre-spawning feeding with the combined feed supplemented with vitamin E and selenium, blood samples for biochemical tests were collected from fish of the control and both experimental groups.

Findings. It was found that pre-spawning feeding of carp females and males with combined feeds supplemented with the above mentioned vitamin-mineral additive had a positive effect on the contents of T-, B-lymphocytes and their subpopulations in fish blood.

Originality. The effect of the liposomal preparation with vitamin E and microelement Se fed to brood carp during the pre-spawning period on the contents of T-, B-lymphocytes and their subpopulations in fish peripheral blood was studied for the first time.

Practical value. The results of the study can be used in fish breeding centers and full-system fish farms for balanced feeding of brood fish.

Keywords: brood carp, pre-spawning period, liposomal preparation, vitamin E, microelement selenium, T-, B - lymphocytes.

