

УДК 574.2 : 614.91/449

## ДОСЛІДЖЕННЯ ЗАЛЕЖНОСТІ РИБНИЦЬКО-БІОЛОГІЧНИХ ТА ІМУНОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КОРОПІВ ВІД РІЗНИХ СПОСОБІВ ВАКЦІНАЦІЇ

*Компанець Е.В. - к. с.-г. н., доцент Національний педагогічний  
університет імені М.П.Драгоманова*

**Постановка проблеми.** Захист риб від аеромонадної інфекції в рибницьких господарствах може відбуватись шляхом профілактичних вакцинацій. Однак, в теперішній час таких вакцин не існує, а ті що випробовувались мали дуже незначний ефект. Тому стає питання щодо вивчення механізму дії цих вакцин на рибницькі показники та імунну систему коропів для подальших розробок у цьому напрямку. Ці дослідження допомогли б наблизитись до розробки більш дієвих засобів профілактики і захисту риб від аеромонозів.

**Стан вивчення проблеми.** Дослідження по імунізації риб антигенами, приготованими з патогенних бактерій, свідчать про існуючу залежність набутих захисних властивостей від температури води, способів і дози введення антигену, тривалості імунізації, наявності імунологічної пам'яті та інших чинників [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 тощо]. Є дані про ультраструктуру імунокомпетентних клітин лімфатичних органів у риб і впливу на них імунізації [7, 9, 10], однак питання про вміст і співвідношення імуноцитів у периферійній крові у них досі залишається відкритим.

**Завдання і методика досліджень.** Були проведені дослідження вмісту різних популяцій лімфоцитів і деяких показників (фізіологічних, гематологічних і імунологічних) у інтактних риб після трикратної імунізації антигеном бактерій *Aeromonas hydrophila*, вбитих прогріванням (при 70°C і експозиції 30 хвилин). Вакцинацію дослідних риб здійснювали у 1998 та 2011 роках шляхом введення антигену в черевну порожнину і методом гіперосмотичної інфільтрації (занурення). Досліди проводили у садках рибницького господарства КПТРГ та в акваріумах при температурі води 14,8-26,1°C, вмісті кисню 3,8-8,0 мг/л O<sub>2</sub> і рН 6,9-7,4. Коропів утримували у садках при щільності посадки 170-210 екз./м<sup>3</sup>, годували пастоподібною сумішшю і комбікормом 111-9 8-10 разів протягом доби. Добовий раціон складав 5,8-15,5% від маси риби і прораховувався в залежності від температури води і вмісту розчиненого у ній кисню.

Виділення клітин крові коропів проводили за загальноприйнятими методами. Т- і В-лімфоцити визначали в реакції розеткоутворення [11]. Бактеріостатичну активність сироватки крові (БАСК) визначали мікрометодом в нашій модифікації [12]. Досліди проводили у 1998 та 2011 роках.

**Результати досліджень.** Показники маси, довжини тіла, коефіцієнта вгодованості, приросту, виходу та рибопродуктивності у піддослідних риб під час вакцинації статистично не відрізнялись від контрольної (табл.1 і 2).

Таблиця 1 - Рибицькі показники у коропів при вакцинації (M±m)

| Показники                              | Контроль-на група | При вакцинації в черевну порожнину | При вакцинації гіперосмотичним методом |
|----------------------------------------|-------------------|------------------------------------|----------------------------------------|
| Щільність посадки, екз./м <sup>3</sup> | 170               | 170                                | 170                                    |
| Початкова середня маса, г              | 27,0±1,26         | 27,0±1,26                          | 27,0±1,26                              |
| -% до контролю                         | 100               | 100                                | 100                                    |
| Кінцева середня маса, г                | 107,5±8,39        | 111,2±6,28                         | 112,8±12,97                            |
| -% до контролю                         | 100               | 103,4                              | 104,9                                  |
| Вихід,%                                | 97,6              | 94,7                               | 97,1                                   |
| Приріст, г                             | 80,5              | 84,2                               | 85,8                                   |
| -% до контролю                         | 100               | 104,6                              | 106,6                                  |
| Рибопродуктивність, кг/м <sup>3</sup>  | 13,3              | 13,5                               | 14,2                                   |
| -% до контролю                         | 100               | 101,5                              | 106,8                                  |

В експерименті у дослідній групі риб, яку обробляли методом занурення, спостерігали збільшення загальної кількості Т-лімфоцитів, у порівнянні з іншими групами коропів ( $P < 0,05-0,001$ ). У риб, вакцинованих в черевну порожнину, навпаки, відзначали зменшення кількості Т-клітин, як по відношенню до контролю ( $P < 0,01$ ), так і дослідної групи ( $P < 0,001$ ) (табл. 2.).

При аналізі кількісних характеристик спостерігали суттєве підвищення В-лімфоцитів тільки у групи риб, яким вводили антиген шляхом гіперосмотичної інфільтрації. Воно було вірогідно вищим, ніж у контрольних риб ( $P < 0,001$ ) і коропів при внутрішньочеревній імунізації ( $P < 0,001$ ). До того ж, по відношенню до контролю, був вищим і відсоток цих клітин ( $P < 0,05$ ).

По загальній кількості лімфоцитів в периферійній крові достовірне збільшення, по відношенню до інших груп, спостерігали тільки у риб, яких вакцинували методом гіперосмосу ( $P < 0,05-0,001$ ). У коропів, імунізованих в черевну порожнину, цей показник був нижче, ніж у риб контролю ( $P < 0,001$ ) і щеплених шляхом інфільтрації ( $P < 0,001$ ).

У групі риб, імунізованих шляхом інфільтрації достовірно ( $P < 0,05$ ), по відношенню до контролю, знижувався показник відношення відсотка Т-лімфоцитів до В-лімфоцитів, який склав 1,31, це відбулося за рахунок збільшення відсотка В-клітин. Зниження цього показника в іншій групі риб було менш значущим і складало 1,91.

Вакцинація в обох дослідних групах супроводжувалась достовірним збільшенням бактерицидної активності сироватки крові ( $P < 0,01$ ) по відношенню до контрольних риб (66,7%). БАСК коропів, імунізованих методом інфільтрації, склала 88,6%, при введенні антигену в черевну порожнину – 88,0%. Середні титри антитіл до *A. hydrophila* у позначених вище дослідних груп склали, відповідно, 1:18,7 і 1:27,4, у контрольній групі - 1:10,1. При цьому межа титрів антитіл у риб, імунізованих в черевну порожнину, була вище (1:16 - 1:64), ніж у коропів, щеплених шляхом інфільтрації (1:8 - 1:32). У риб контрольної групи ці показники знаходились на рівні 0 - 1:16.

Окрім Т- і В-лімфоцитів в крові у коропів циркулюють лімфоцити, що не мають поверхніх маркерів або, так звані, О-клітини. У риб, імунізованих в черевну порожнину, кількісний вміст О-лімфоцитів був нижчим, ніж у інших груп ( $P < 0,001$ ). По кількості еритроцитів різниця між групами була несуттєвою ( $P > 0,05$ ).

**Таблиця 2 - Рибницько-біологічні, імунологічні та гематологічні показники у коропів після вакцинації (КВТРГ) ( $M \pm m$ )**

| N<br>п/п | Показники                                         | Конт-<br>роль<br>n=25 | Група риб імунізована          |                        |
|----------|---------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------|------------------------|
|          |                                                   |                       | в черевну<br>порожнину<br>n=26 | гіперосмотично<br>n=26 |
| 1.       | Довжина, см                                       | 14,9±0,39             | 15,0±0,33                      | 15,2±0,44              |
| 2.       | Маса, г                                           | 107,5±8,3<br>9        | 111,2±6,28                     | 112,8±12,97            |
| 3.       | Коефіцієнт вгодваності за Фуль-<br>тоном          | 3,13±0,08             | 3,26±0,07                      | 2,98±0,08              |
| 4.       | Кількість еритроцитів,<br>млн.кл./мм <sup>3</sup> | 2,19±0,12             | 2,02±0,12                      | 2,19±0,11              |
| 5.       | Кількість лейкоцитів, тис.кл./мм <sup>3</sup>     | 52,89±4,9<br>8        | 37,72±4,84                     | 60,44±6,15             |
| 6.       | Кількість лімфоцитів, тис.кл./мм <sup>3</sup>     | 20,67±1,9<br>5        | 12,2±1,14                      | 29,91±3,33             |
| 7.       | Т-лімфоцити, тис.кл./мм <sup>3</sup>              | 4,93±0,77             | 3,32±0,43                      | 7,51±0,82              |
| 8.       | В-лімфоцити, тис.кл./мм <sup>3</sup>              | 2,84±0,51             | 2,40±0,28                      | 7,48±1,20              |
| 9.       | О-лімфоцити, тис.кл./мм <sup>3</sup>              | 12,9±1,57             | 6,39±0,63                      | 14,92±2,09             |
| 10.      | Т-лімфоцити,%                                     | 24,0±2,38             | 27,1±1,84                      | 26,3±1,77              |
| 11.      | В-лімфоцити,%                                     | 15,4±2,76             | 19,2±1,69                      | 23,6±2,41              |
| 12.      | О-лімфоцити,%                                     | 60,6±4,35             | 53,7±2,13                      | 50,1±3,06              |
| 13.      | Т% / В%                                           | 2,67±0,57             | 1,91±0,36                      | 1,31±0,14              |
| 14.      | БАСК,%                                            | 66,7±11,4<br>3        | 88,0±4,69                      | 88,6±2,89              |
| 15.      | Титр антитіл до бактерії<br>A. hydrophila         | 1:10,1                | 1:27,4                         | 1:18,7                 |

**Висновки і пропозиції.** Таким чином, у обох дослідних груп риб спостерігали збільшення БАСК і титрів антитіл до A. hydrophila, яке свідчить про стимуляцію імунної системи. Особливо помітне зростання вивчених показників відзначено у риб після введення антигену в черевну порожнину. В той же час у цієї групи риб спостерігали зменшення кількості Т-лімфоцитів. Це підтверджує літературні відомості, що при даному методі імунізації, антиген концентрується в нирках і селезінці риб, де відбуваються процеси диференціації антигенреагуючих лімфоцитів [1, 3, 4, 5, 10].

У риб, імунізованих шляхом гіперосмотичної інфільтрації антигену, у порівнянні з іншою дослідною групою, навпаки, відзначено підвищення абсолютної кількості Т- і В-лімфоцитів у крові. В той же час, у цих риб спостерігали дещо підвищений по відношенню до інтактних риб, відносний вміст В-лімфоцитів. В результаті в організмі цих риб зменшилось співвідношення Т-до В-клітин. Це можна пояснити тим, що при інфільтрації антигену через зябра і покрив тіла коропів відбувається його часткова затримка в верхніх шарах шкіри і зябер, в яких є лімфоїдні утворення у вигляді локальної імунної систе-

ми, створеною лімфоцитоподібними або мукозними клітинами [13, 14], внаслідок чого з ними можуть взаємодіяти лише лімфоцити периферійної крові. Є свідчення, що при цьому способі інокуляції антигену, в нирках і селезінці риб кількість антигенреагуючих лімфоцитів у 1,5-2 рази менша, ніж при внутрішньочеревному введенні [1].

Отже, при різних способах введення антигену працюють різні підсистеми імунітету, що передбачає різний ступень захисту. Це необхідно враховувати при проведенні профілактичної вакцинації риб у виробничих умовах.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Балабанова Л.В. Влияние иммунизации на ультраструктуру иммунокомпетентных клеток почек карпа // Профилактика, лечение и диагностика инфекц. болезней рыб. Всес. совещ. 5 Всес.симпоз. по инфекц. болезням рыб.- М., 1986.-С.8-9.
2. Купер Э. Сравнительная иммунология. М.:Мир, 1980.- 422 с.
3. Лукьяненко В.И. Иммунология рыб. - М.: Пищ.пром-ть, 1971.- 364 с.
4. Лукьяненко В.И. Иммунобиология рыб: врожденный иммунитет. Моногр. - М.: Агропромиздат, 1989.- 271 с.
5. Микряков В.Р. Изучение факторов иммунитета у рыб на примере карпа *Cyprinus carpio* // Автореф.канд.дисс.-М., 1969.- 20 с.
6. Микряков В.Р. Закономерности функционирования иммунной системы пресноводных рыб: Автореф. докт. дисс. - М., 1984.- 38 с.
7. Заботкина Е.А. Особенности функциональной активности лейкоцитов периферической крови костистых рыб //Расширенные материалы Международной научно-практической конференции: Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов.- Борок, 2007. – С.23-36
8. Исаева Н.М., Компанец Э.В., Супрун С.М. Некоторые аспекты взаимодействия рыб с возбудителями инфекций //Матеріали міжнародної науково-практич. конференції «Актуальні проблеми аквакультури та раціонального використання водних біоресурсів». 26-30 вересня 2005 р. - К.: Інститут рибного господарства УААН.- С.100-103.
9. Dunn E.J., Scarrett D.J., Olivier G., Lall S., Goosen M.F.A. Vaccines in aquaculture: The search for an efficient delivery system // Aquacult. Eng.- 1990.- 9, N 1.- P. 23-32.
10. Lamers C.H.J., Hystophysiology of a primary immune response against *Aeromonas hydrophila* in carp (*Cyprinus carpio* L.) // J. Exp Zool.- 1986.- 238.- N 1.- P.71-80.
11. Кулинич Н.Н., Галатюк А.Е. Определение Т- и В-лимфоцитов в периферической крови карпа // Ветеринария.-1986.- № 11.- С.28-29.
12. Компанец Е.В. Мікрометод визначення БАСК у риб та його використання в імунологічних дослідках // Рибне господарство. – Київ, 1991. - №45. – С.71 – 73
13. Lemaitre C., Orange N., Saglio P., Saint N., Gagnon J., Molle G. Characterization and ion channel activities of novel antibacterial proteins from the skin mucosa of carp (*Cyprinus carpio*) // Eur. J. Biochem.- 1996.- 240, N 1.- P. 143-149.

14. Peleteiro M.C., Richards R.H. Immunocytochemical studies on immunoglobulin-containing cells in the epidermis of rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson: influence of bath vaccination // J. Fish Biol.-1988.- 32.- N6.- P.845-858.

УДК 639.371.5(477)

## ЗМІНИ БІОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ МОЛОДІ КОРОПОВИХ РИБ ПРОТЯГОМ ЗИМІВЛІ

*Лянзберг О.В. - к.с.-г.н., Херсонський ДАУ*

**Постановка проблеми.** У зв'язку з існуючою різноманітністю технологій, що застосовуються в сучасній аквакультурі, використовувані методи оцінки якості рибопосадкового матеріалу досить протирічні і не завжди відображають адаптаційні можливості до умов навколишнього середовища. Саме тому поряд з рибогосподарськими та традиційними біологічними параметрами провідного значення набувають методи оцінки фізіологічного та біохімічного стану організму риб у найбільш чутливий до впливу факторів оточуючого середовища період раннього онтогенезу, а саме на першому році життя. Таким чином, присвячені даній тематиці роботи мають суттєвий науковий інтерес та є достатньо актуальними для виробництва.

**Стан вивчення проблеми.** В умовах ставового господарювання особливості розвитку особин у процесі онтогенезу тісно пов'язані з динамікою такої надмірно лабільної тканини організму, здатної реагувати на найдрібніші зміни параметрів навколишнього середовища, як кров [1].

Вивчення функціонального стану крові показало її важливу роль при адаптаціях до факторів зовнішнього середовища. Видові особливості крові закріплені спадковістю, до яких відносяться склад і морфологія клітинних форм, кількісні параметри та їх сезонно-вікова динаміка. Виконання таких функцій, як дихальна, захисна, трофічна та інші, покладено на клітинні елементи крові: еритроцити, лейкоцити та тромбоцити, що передбачає можливість їх використання для діагностики фізіологічного стану риб [2-4].

Крім досліджень динаміки морфологічних показників крові – інтегруючої системи організму, поширеними у рибогосподарській практиці є також дослідження тих біохімічних показників інших органів і тканин риб, які підвладні сезонній та віковій мінливості.

Численні дані свідчать про значні варіації біохімічного статусу риб під впливом різноманітних екологічних факторів. Ці зміни можуть нести адаптивний характер, але й можуть бути результатом патологічних процесів, приводячи до загибелі риб. На фоні арсеналу гідрохімічних, гідробіологічних, іхтіологічних, мікробіологічних, фізіологічних гістохімічних методів аналізу для визначення ефекту різних впливів на стан водних екосистем біохімічні методи дозволяють спостерігати зміни в обміні речовин у організмі, які наступають, як правило, до появи фізіологічних, морфологічних та інших відхилень від норми [5, 6].